ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์)

ปริญญา

โภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์ | สัตวบาล

สาขา | **ภาควิชา**

เรื่อง ผลการใช้ใบมันสำปะหลังแห้งในสูตรอาหารต่อภูมิคุ้มกันของไก่กระทง

Effects of Dietary Dried Cassava Leaves on Immunity in Broilers

นามผู้วิจัย นางสาวจีราภา เตียวสมบูรณ์กิจ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ .....

(รองศาสตราจารย์อุทัย คันโธ, วท.ม.)

กรรมการ .....

(อาจารย์สุกัญญา จัตตุพรพงษ์, วท.ม.)

กรรมการ .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ชนินทร์ ติรวัฒนวานิช, Ph.D.)

กรรมการ .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์จงรักษ์ แก้วประสิทธิ์, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสมสม อาตมางกูร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์วินัย อาจคงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

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

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลการใช้ใบมันสำปะหลังแห้งในสูตรอาหารต่อภูมิคุ้มกันของไก่กระทง

Effects of Dietary Dried Cassava Leaves on Immunity in Broilers

โดย

นางสาวจีราภา เตียวสมบูรณ์กิจ

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์)
พ.ศ. 2550

จีราภา เตียวสมบูรณ์กิจ 2550: ผลการใช้ใบมันสำปะหลังแห้งในสูตรอาหาร ต่อภูมิคุ้มกันของไก่กระทง ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์) สาขาโภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล ประธานกรรมการที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์อุทัย คันโธ, วท.ม. 80 หน้า

ผลการใช้ใบมันสำปะหลังแห้งในสูตรอาหารต่อภูมิคุ้มกันของไก่กระทง ใช้แผนการทดลองแบบบล็อคสมบูรณ์ (Randomized Complete Blocks Design; RCBD) โดยใช้ลูกไก่กระทงคละเพศอายุ 1 วัน จำนวน 720 ตัว แบ่งออกเป็นสองกลุ่มการทดลอง โดยทดลองที่ระยะเวลาแตกต่างกัน แต่ละระยะเวลาใช้ลูกไก่กระทงแรกเกิดจำนวน 360 ตัว แบ่งการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม แต่ละกลุ่มประกอบ ไปด้วย 6 ซ้ำ ซ้ำละ 15 ตัว อาหารที่ใช้ทดลองเป็นสูตรอาหารไก่กระทงที่มีกากถั่วเหลืองและใบมันสำปะหลังแห้งเป็นแหล่งโปรตีนในระดับ 0, 3, 5 และ 7% อาหารทุกสูตรเป็นอาหารอัดเม็ด ผลการศึกษาพบว่าไก่กระทงกลุ่มที่กินอาหารที่มีใบมันสำปะหลังในสูตรอาหาร มีจำนวนเซลล์แมคโครฟาจที่จับกินเม็ดเลือดแดงแกะชนิด opsonized sheep red blood cell และ unopsonized sheep red blood cell มากกว่าไก่กระทงที่กินอาหาร ที่ไม่มีระดับใบมันสำปะหลังในสูตรอาหารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) การศึกษาระดับแอนติบอดีพบว่าระดับแอนติบอดีของไก่กระทงกลุ่มที่ไม่ได้กินและกลุ่มที่ได้กินใบมันสำปะหลังในสูตรอาหารในทุกระดับ มีระดับของแอนติบอดีแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ($P>0.05$) ส่วนการเจริญของลิมโฟซัยท์ ไก่กระทงกลุ่มที่กินอาหารที่มีใบมันสำปะหลังในสูตรอาหาร มีการเจริญของเซลล์ลิมโฟซัยท์ ชนิดที ในวันที่ 0, 3 และ 7 มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) นอกจากนี้ไก่ที่กินอาหารสูตรที่มีใบมันสำปะหลัง 5 และ 7% ในสูตรอาหาร มีปริมาณ GSH ในเม็ดเลือดแดงสูงกว่าไก่ที่กินอาหารที่มีใบมันสำปะหลัง 0 และ 3% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และไก่กระทงอายุ 21 วัน กลุ่มที่กินอาหารที่มีใบมันสำปะหลังในสูตรอาหาร มีปริมาณแอนติออกซิแดนซ์รวมสูงกว่ากลุ่มอื่นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ในส่วนของไก่กระทงอายุ 28 และ 35 วัน กลุ่มที่กินอาหารที่มีใบมันสำปะหลังมีแอนติออกซิแดนซ์รวมสูงกว่ากลุ่มที่กินอาหาร ที่ไม่มีใบมันสำปะหลังอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) พบว่าไก่ที่กินอาหารที่มีใบมันสำปะหลังในระดับที่แตกต่างกันในช่วงอายุ 0-3, 3-6 และ 0-6 สัปดาห์มีสมรรถภาพการผลิตลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P<0.05$)

การศึกษาวิธีการสกัดสารและการวิเคราะห์สารสกัดจากตัวอย่างใบมันสำปะหลังในเชิงคุณภาพ วิเคราะห์ พบสารประกอบฟีนอลิก สารแคโรทีนอยด์และแซนโทฟิลล์ การตรวจสอบทาง Phytochemical method พบสารอัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ และแทนนิน นอกจากนี้ยังพบสารประกอบฟีนอลิกในปริมาณ 318.62 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่อประธานกรรมการ

Jeerapa Tiewsomboonkit 2007: Effects of Dietary Dried Cassava Leaves on Immunity in Broilers. Master of Science (Animal Nutrition and Feed Technology), Major Field: Animal Nutrition and Feed Technology, Department of Animal Science. Thesis Advisor: Associate Professor Uthai Kanto, M.S. 80 pages.

Effects of dietary dried cassava leaves (DCL) in broiler diets on immunology of the animals were studied in 720 day-old broiler chicks utilizing randomized complete block design. The study was divided into 2 parts of the identical practice protocol but conducting at 2 period of time. Each part of the study, 360 day-old broiler chicks was divided into 4 groups of 90 animals each. Each group of the animals was further divided into 6 subgroups of 15 animals each which was kept in a pen where feed and water were provided ad libitum. Each group of the animals was randomly fed an experimental pelleted corn-soybean meal diet which containing 0, 3, 5 or 7 % dried cassava leaves meal. Result of the study have shown that broilers on diet containing DCL have significantly higher ($P<0.05$) phagocyted macrophage for opsonized and unopsonized sheep red blood cells than those on the diet without DCL. DCL have no influence on antibody development of the animals. Broilers on diets containing DCL have significantly higher ($P<0.05$) T-lymphocyte proliferation in day 0, 3 and 7 than those on the diet without DCL. Animals on diet containing 5 and 7 % DCL had significantly higher ($P<0.05$) GSH in erythrocyte than those on diet containing 0 and 3 % DCL. Broilers on diets containing DCL had significantly higher ($P<0.05$) total antioxidant capacity in blood than those on the diet without DCL. Inclusion of DCL in broiler diets significantly ($P<0.05$) reduced production performance of the animals.

Qualitative study of DCL extract presented phenolic compounds, β-caroteins and xanthophylls. Alkaloids, flavanoids and tannins were found from phytochemical test of DCL. The content of phenolic compound in DCLM is 318.62 mg/100 g.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์อุทัย คันโธ ประธานกรรมการที่ปรึกษา อาจารย์สุกัญญา จัตตุพรพงษ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ น.สพ. ดร. ชนินทร์ ติรวัฒนวานิช และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จงรักษ์ แก้วประสิทธิ์ กรรมการสาขาวิชาเอก เป็นอย่างสูงที่กรุณาให้คำปรึกษาด้านการศึกษาและคำแนะนำในด้านการทดลองอย่างใกล้ชิด ตลอดจนการเขียนรายงานวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ และรองศาสตราจารย์ ดร. สนธิชัย จันทร์เปรม อาจารย์ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัยที่กรุณาให้คำแนะนำและแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ มูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย ในพระราชูปถัมภ์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยครั้งนี้ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตสัตว์ปีก สถาบันสุวรรณวาจกกสิกิจฯ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในเลี้ยงสัตว์ทดลอง เจ้าหน้าที่ศูนย์ค้นคว้าและพัฒนาวิชาการอาหารสัตว์ และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน ที่ให้คำปรึกษาแนะนำ และเอื้อเฟื้อสถานที่ในการวิเคราะห์อาหาร เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมี สายวิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการศึกษาสารออกฤทธิ์ในใบมันสำปะหลัง เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน ที่ให้คำแนะนำและเอื้อเฟื้อสถานที่ในการปฏิบัติการทางด้านภูมิคุ้มกัน ขอขอบคุณ คุณยอดขวัญ โค้วเจริญทรัพย์ คุณสรัสนันท์ สว่างคำ คุณภุชงค์ สุขพิมาย และคุณนิภาพร กาญจนา เพื่อนนิสิตปริญญาโท ที่มีน้ำใจช่วยเหลือและสละเวลาในการปฏิบัติการทางภูมิคุ้มกัน ขอขอบคุณน้องนิสิตปริญญาตรี สายวิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปะศาสตร์และวิทยาศาสตร์ ที่ช่วยเหลือในการศึกษาสารออกฤทธิ์จากใบมันสำปะหลัง

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่ออนุวัต และคุณแม่ไช้ยู้ ที่ให้ความรัก กำลังใจและโอกาสในการศึกษาตลอดมา และเป็นแบบอย่างที่สอนให้รู้ถึงความพยายามและความอดทน คุณค่าและประโยชน์จากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแด่ บิดา มารดา ครู อาจารย์และผู้มีพระคุณทุกท่าน

จีราภา เตียวสมบูรณ์กิจ

สิงหาคม 2550

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(6)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	19
อุปกรณ์	19
วิธีการ	30
ผลและวิจารณ์	41
สรุปและข้อเสนอแนะ	60
สรุป	60
ข้อเสนอแนะ	62
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	63
ภาคผนวก	71
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	81

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	โภชนะของใบมันสำปะหลังเปรียบเทียบกับกากถั่วเหลือง	6
2	ปริมาณกรดอะมิโนในวัตถุดิบอาหารสัตว์	7
3	ปริมาณกรดไฮโดรไซยานิคในผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง	10
4	ปริมาณกรดไฮโดรไซยานิคในใบมันสำปะหลัง	11
5	องค์ประกอบทางโภชนะในสูตรอาหารไก่กระทงอายุ 0-19 วัน	20
6	องค์ประกอบทางโภชนะในสูตรอาหารไก่กระทงอายุ 20-35 วัน	21
7	องค์ประกอบทางโภชนะในสูตรอาหารไก่กระทงอายุ 36-42 วัน	22
8	ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารสกัดหยาบจากใบมันสำปะหลังแห้ง	37
9	การทดสอบความสามารถของตัวทำละลายด้วยวิธี Thin layer chromatography (TLC)	38
10	การทำงานของเซลล์แมคโครฟาจในการจับกินเม็ดเลือดแดงแกะ (จำนวนเซลล์แมคโครฟาจที่จับกินเม็ดเลือดแดงแกะ/100 ตัว)	41
11	การทำงานของเซลล์แมคโครฟาจในการจับกินเม็ดเลือดแดงแกะชนิด opsonized (จำนวนเม็ดเลือดแดงแกะที่ถูกกิน/ 1 เซลล์แมคโครฟาจ)	42
12	การทำงานของเซลล์แมคโครฟาจในการจับกินเม็ดเลือดแดงแกะชนิด unopsonized (จำนวนเม็ดเลือดแดงแกะที่ถูกกิน/ 1 เซลล์แมคโครฟาจ)	43
13	ระดับแอนติบอดีของไก่กระทงที่อายุ 0, 7, 14 และ 21 วัน หลังจากฉีดกระตุ้นด้วยเม็ดเลือดแดงแกะ	44
14	การเจริญของเซลล์ลิมโฟซัยท์ชนิดที ในเลือดของไก่กระทงที่ตอบสนองต่อการให้ concanavalin A ในวันที่ 0, 3 และ 7 หลังจากฉีดกระตุ้นด้วยเม็ดเลือดแดงแกะ	45
15	ปริมาณกลูตาไธโอนในเม็ดเลือดแดงของไก่กระทงอายุ 21, 28 และ 35วัน(μM)	46
16	ปริมาณ total antioxidant capacity (TAC) ของไก่กระทงอายุ 21, 28 และ 35 วัน (μM)	49

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
17	ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนะของอาหารไก่กระทงอายุ 0-19, 21-35 และ 36-42 วัน	51
18	ค่าเฉลี่ยปริมาณอาหารที่กิน น้ำหนักตัวที่เพิ่ม ประสิทธิภาพการปลี่ยนอาหาร และเปอร์เซ็นต์การเลี้ยงรอดของไก่กระทงอายุ 0-6 สัปดาห์	52
19	ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารและลำดับชั้นของสารสกัดละเอียดโดยวิธี Column chromatography	54
20	ผลการวิเคราะห์สารสกัดละเอียดด้วย UV-VIS spectrophotometer และ Infrared spectrophotometer (IR)	56
21	ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้	56
22	สรุปสารที่พบจากการวิเคราะห์ด้วย UV-VIS spectrophotometer Infrared spectrophotometer (IR) และ Phytochemical	59

ตารางผนวกที่

1	ผลการทดสอบสารสกัดละเอียดด้วย Phytochemical method	80

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	การสลายตัวของสารพิษลินามารินและลอทอสตราลิน	9
2	การลดความเป็นพิษกรดโฮโดรไซยานิคในร่างกาย	11
3	การกำจัดอนุมูลอิสระ	13
4	โครงสร้างของฟีนอลและเพลาร์โกนิน	17
5	โครงสร้างของเบตาแคโรทีนและซีแซนทิน	18
6	การแยกชั้นและสีของสารสกัดหยาบจากการทดสอบความสามารถของตัวทำละลายโดวิธี Thin layer chromatography (TLC) ของการทดลองที่ 3.3	53

ภาพผนวกที่

1	การแยกชั้นภายในคอลัมน์และสีของสารสกัดละเอียดของการทดลองที่ 3.1	74
2	การแยกชั้นภายในคอลัมน์และสีของสารสกัดละเอียดของการทดลองที่ 3.2	74
3	การแยกชั้นภายในคอลัมน์และสีของสารสกัดละเอียดของการทดลองที่ 3.3	75
4	การแยกชั้นภายในคอลัมน์และสีของสารสกัดละเอียดของการทดลองที่ 3.4	75
5	การวิเคราะห์ด้วย UV-VIS spectrophotometer ของสารสกัดละเอียดลำดับชั้นที่ 6 ของการทดลองที่ 3.1 โดยสกัดหยาบด้วยเอทธานอล 95% และสกัดละเอียดด้วย เอ ทธิลอะซิเตต : เฮกเซน	76
6	การวิเคราะห์ด้วย UV-VIS spectrophotometer ของสารสกัดละเอียดลำดับชั้นที่ 5 ของการทดลองที่ 3.2 โดยสกัดหยาบด้วยเมทธานอล 80% และสกัดละเอียดด้วย เอทธิลอะซิเตต : เฮกเซน	76
7	การวิเคราะห์ด้วย UV-VIS spectrophotometer ของสารสกัดละเอียดลำดับชั้นที่ 5 ของการทดลองที่ 3.3 โดยสกัดหยาบด้วยอะซิโตน และสกัดละเอียดด้วยเฮกเซน : อะซิโตน	77
8	การวิเคราะห์ด้วย UV-VIS spectrophotometer ของสารสกัดละเอียดลำดับชั้นที่ 5 ของการทดลองที่ 3.4 โดยสกัดหยาบและละเอียดด้วย เฮกเซน: อะซิโตน:เมธานอล	77

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่ **หน้า**

9	การวิเคราะห์ด้วย IR ของสารสกัดละเอียดลำดับชั้นที่ 6 ของการทดลองที่ 3.1 โดยสกัดหยาบด้วยเอทธานอล 95% และสกัดละเอียดด้วยเอทธิลอะซิเตต:เฮกเซน	78
10	การวิเคราะห์ด้วย IR ของสารสกัดละเอียดลำดับชั้นที่ 4 ของการทดลองที่ 3.2 โดยสกัดหยาบด้วยเมทธานอล 80% และสกัดละเอียดด้วยเอทธิลอะซิเตต : เฮกเซน	78
11	การวิเคราะห์ด้วย IR ของสารสกัดละเอียดลำดับชั้นที่ 5 ของการทดลองที่ 3.3 โดยสกัดหยาบด้วยอะซิโตน และสกัดละเอียดด้วยเฮกเซน : อะซิโตน	79
12	การวิเคราะห์ด้วย IR ของสารสกัดละเอียดลำดับชั้นที่ 6 ของการทดลองที่ 3.4 โดยสกัดหยาบและละเอียดด้วยเฮกเซน : อะซิโตน : เมทธานอล	79

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

B cell	=	B lymphocyte
CAT	=	Catalase
CD	=	Cluster of differentiation
GPX	=	Glutathione peroxidase
GR	=	Glutathione reductase
GSH	=	Glutathione, reduced glutathione
GSSG	=	Glutathione disulfide, oxidized glutathione
HCN	=	Hydrocyanic acid
H_2O_2	=	Hydrogenperoxide
IL-12	=	Interleukin 12
IR	=	Infrared spectrophotometer
NADPH	=	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
PBS	=	Phosphate buffer saline
SOD	=	Superoxide dismutase
SRCB	=	Sheep red blood cell
T cell	=	T lymphocyte
Tc-cell	=	cytotoxic T lymphocyte
Th-cell	=	helper T lymphocyte
TAC	=	Total antioxidant capacity
TLC	=	Thin layer chromatography

ผลการใช้ใบมันสำปะหลังแห้งในสูตรอาหารต่อภูมิคุ้มกันของไก่กระทง

Effects of Dietary Dried Cassava Leaves on Immunity in Broilers

คำนำ

มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย ในปัจจุบันได้มีการนำมันสำปะหลังมาใช้เป็นอาหารสัตว์มากขึ้น ทำให้มีการปลูกมันสำปะหลังกันมากขึ้นด้วย โดยมีเป้าหมายในการปลูกมันสำปะหลังเพื่อนำเอาหัวมันไปใช้เป็นแหล่งพลังงานในอาหารสัตว์ ข้อดีของหัวมันสำปะหลังในการใช้เป็นอาหารสัตว์คือเป็นแป้งอ่อน (soft starch) ย่อยได้ง่ายและเร็ว ทำให้การใช้ประโยชน์ได้สูง

ในขณะที่มีการปลูกมันสำปะหลังเพื่อใช้หัวมันเป็นแหล่งพลังงานในอาหารสัตว์นั้นพบว่ามักจะมีใบมันสำปะหลังเป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรเป็นจำนวนมาก ทั้งนี้ใบมันสำปะหลังมีปริมาณโปรตีนค่อนข้างสูงทั้งที่ไม่ใช่พืชตระกูลถั่ว นอกจากนี้ยังมีไวตามินต่างๆ เบต้าแคโรทีนและแซนโทรฟิลล์อยู่ในปริมาณมาก จึงสามารถนำใบมันสำปะหลังมาใช้เป็นวัตถุดิบแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์ได้ อย่างไรก็ตามใบมันสำปะหลังไม่สามารถใช้ทดแทนวัตถุดิบแหล่งโปรตีนชนิดอื่นได้ทั้งหมดเพราะมีเยื่อใยอยู่สูง ในส่วนของสารพิษกรดไฮโดรไซยานิคหรือไซยาไนด์ (HCN) นั้นพบว่าเมื่อนำใบมันสำปะหลังไปหั่นและตากให้แห้ง ปริมาณสารพิษจะลดลงจนอยู่ในระดับต่ำและไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์ ในทางตรงกันข้ามเมื่อสัตว์ได้รับไซยาไนด์ในปริมาณต่ำ ร่างกายจะเปลี่ยนให้เป็นสารไธโอไซยาเนต (thiocyanate) ซึ่งมีพิษน้อยกว่าไซนาไนด์ประมาณ 200 เท่า และจะถูกขับออกจากร่างกายทางปัสสาวะ สารไธโอไซยาเนตนี้สามารถทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogenperoxide; H_20_2) และมีผลกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (peroxidase) เป็นการต้านอนุมูลอิสระในร่างกายได้ มีรายงานการวิจัยพบว่าไก่ไข่ที่กินอาหารสูตรใบมันสำปะหลังมีอัตราการตายต่ำกว่าไก่ที่กินอาหารสูตรอื่น นอกจากนี้ยังมีเปอร์เซ็นต์การไข่สูงกว่าด้วย ดังนั้นใบมันสำปะหลังจึงมีศักยภาพในการใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ นอกจากเป็นแหล่งให้โปรตีนและสารให้สีแล้ว ยังมีความเป็นไปได้ที่เป็นวัตถุดิบอาหารช่วยเพิ่มภูมิต้านทานโรคให้แก่สัตว์ได้อีกด้วย การศึกษาถึงผลของการใช้ใบมันสำปะหลังที่มีผลต่อระบบภูมิต้านทานโรคในสัตว์ปีกยังมีการศึกษาน้อย

การศึกษาในครั้งนี้เพื่อศึกษาผลการใช้ใบมันสำปะหลังแห้งในสูตรอาหารไก่กระทงต่อการสร้างภูมิต้านทานโรค เพื่อเป็นแนวทางในการลดการใช้ยาปฏิชีวนะและยังเป็นการเพิ่มมูลค่าของใบมันสำปะหลังซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการปลูกมันสำปะหลังอีกด้วย

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาถึงผลของการใช้ใบมันสำปะหลังในระดับที่แตกต่างกันต่อการตอบสนองของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง (non-specific immunity) ในไก่กระทงโดยใช้การทำงานของเซลล์แมคโครฟาจ (macrophage phagocytosis activity) เป็นตัวบ่งชี้

2. เพื่อศึกษาถึงผลของการใช้ใบมันสำปะหลังในระดับที่แตกต่างกันต่อระดับแอนติบอดีโดยใช้เม็ดเลือดแดงแกะเป็นแอนติเจน

3. เพื่อศึกษาถึงผลของการใช้ใบมันสำปะหลังในระดับที่แตกต่างกันต่อการตอบสนองของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจง (specific immunity) ในไก่กระทงโดยใช้การเจริญของเซลล์ลิมโฟซัยท์ (lymphocyte proliferation) เป็นตัวบ่งชี้

4. เพื่อศึกษาถึงผลของการใช้ใบมันสำปะหลังในระดับที่แตกต่างกันต่อระดับกลูตาไธโอน (glutathione) ในเม็ดเลือดแดง

5. เพื่อศึกษาถึงผลของการใช้ใบมันสำปะหลังในระดับที่แตกต่างกันต่อระดับแอนติออกซิแดนซ์รวม โดยใช้ความสามารถของสารแอนติออกซิแดนซ์ในการรีดิวซ์อนุมูลอิสระในพลาสม่า

6. เพื่อศึกษาถึงผลของการใช้ใบมันสำปะหลังในระดับที่ต่างกันต่อระดับสมรรถภาพการผลิตของไก่กระทง

7. เพื่อศึกษาองค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ธรรมชาติที่คาดว่าน่าจะมีในใบมันสำปะหลังในเชิงคุณภาพวิเคราะห์ เช่น phenolic compounds , xanthophyll และ carotenoid เป็นต้น

การตรวจเอกสาร

มันสำปะหลัง

ลักษณะทางพฤกศาสตร์ของมันสำปะหลัง

มันสำปะหลังมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Manihot esculenta* Crantz. เรียกกันทั่วไปว่า cassava, mandioca, topica และ yacca (เจริญศักดิ์, 2532; ดนัย, 2537) โดยได้มีการจัดลำดับทางอนุกรมวิธานดังนี้ (Lancaster *et al.*, 1982)

Order	:	Geraniales
Class	:	Dicotyledonase
Family	:	Euphorbiaceae
Genus	:	Manihot
Species	:	Esculenta

มันสำปะหลังจัดเป็นไม้พุ่ม เป็นไม้เนื้ออ่อนที่มีอายุอยู่ได้หลายปี ลำต้นสูงได้ถึง 4 เมตร มันสำปะหลังเป็นพืชที่เหมาะสมกับเขต tropical ไม่สามารถเจริญได้ในที่ที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดคือ 29 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงที่สุดที่มันสำปะหลังสามารถเจริญเติบโตได้คือ 34 – 38 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำฝนที่เหมาะสมมีปริมาณ 100-150 เซนติเมตรต่อปี มันสำปะหลังมีความสามารถในการปรับตัวในสภาวะแห้งแล้งได้ดี และสามารถเจริญเติบโตได้ในพื้นที่ที่มีปริมาณน้ำฝนต่ำกว่า 50 เซนติเมตรได้ (Onwueme and Charles, 1994) ในช่วงเดือนแรกหลังการปลูกมันสำปะหลังจะมีการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นเป็นส่วนใหญ่ เมื่อมีอายุประมาณ 2 เดือน จึงเริ่มสะสมแป้งโดยการนำไปเก็บไว้ที่รากสะสม ซึ่งจะกลายเป็นหัวมัน โดยทั่วไปแล้วมันสำปะหลังจะมีหัวมันอยู่ประมาณ 5 -20 หัวต่อต้น (เจริญศักดิ์, 2532) นอกจากนี้ Hillock and Thresh (2002) กล่าวว่าใบมันสำปะหลังเป็นแบบใบเดี่ยว (single leaf) มีลักษณะเป็น lobe คล้ายฝ่ามือ โดยปกติจะมีจำนวน lobe เป็นเลขคี่ตั้งแต่ 3 – 9 lobe บางครั้งอาจถึง 11 lobe ลักษณะโครงสร้างและส่วนประกอบของใบมันสำปะหลังจะแปรผันไปตามสภาวะของสภาพแวดล้อมและอายุของพืช ใบที่โตเต็มที่จะมีผิวเรียบ ก้านใบปกติมีความยาว 5 - 30 เซนติเมตร แต่บางครั้งอาจยาวมากกว่า 40 เซนติเมตร ผิวใบด้านหน้ามีลักษณะเป็นมัน ปากใบส่วนใหญ่จะอยู่ที่ขอบใบ จากการศึกษาพบเพียง 2% ที่ปากใบอยู่ใกล้แกนใบ อายุของใบ

มันสำปะหลังอยู่ระหว่าง 60-120 วัน แตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ หากใบมันสำปะหลังไม่ได้รับแสงจะร่วงหลุดภายใน 10 วัน (ไชยรัตน์, 2536)

มันสำปะหลังเป็นพืชที่สามารถอยู่รอดได้ในสภาวะแห้งแล้งได้ เนื่องจากมีลักษณะเฉพาะทาง physiological mechanism คือ มีปากใบอยู่ด้านข้างของใบเท่านั้น และปากใบจะปิดเมื่อมีความแตกต่างของความดันไอน้ำ (vapour pressure difference) ระหว่างใบกับอากาศภายนอกและเมื่อน้ำไม่ถูกดูดซึมเข้าต้นพืช ซึ่งจะตรงกันข้ามกับพืชอื่นที่จะเปิดปากใบตลอดเวลาถึงแม้ว่าน้ำที่ดูดซึมเข้าลำต้นลดลงและจะปิดปากใบเมื่อไม่มีน้ำภายในลำต้นแล้ว ในขณะที่มันสำปะหลังจะปิดปากใบทันทีที่มีการระเหยน้ำมาก นอกจากนี้ยังลดพื้นที่ใบลงโดยการหลุดร่วงของใบแก่ มันสำปะหลังสามารถเจริญเติบโตได้ดีภายใต้ความเข้มของแสงอาทิตย์ที่สูง โดยพบว่าการสังเคราะห์แสงของมันสำปะหลังเป็นลักษณะร่วมของพืช C_3 และ C_4 ถ้าอุณหภูมิต่ำจะใช้การสังเคราะห์แสงแบบพืช C_3 และถ้าอุณหภูมิสูงจะเป็นแบบ C_4 (Onwueme and Charles, 1994)

ใบมันสำปะหลัง

ใบมันสำปะหลังเป็นผลพลอยได้ที่ได้จากการเก็บเกี่ยวหัวมันสำปะหลังแล้ว โดยพบว่าใบมันสำปะหลังมีปริมาณโปรตีนและสารอาหารอื่นๆ ในระดับสูงทั้งที่ไม่ใช่พืชตระกูลถั่ว (ตารางที่ 1) เจริญศักดิ์ (2531) ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในใบมันสำปะหลัง 13 สายพันธุ์ พบว่าใบมันสำปะหลังมีปริมาณโปรตีนตั้งแต่ 21.6 – 25.4 % ก้านใบจะมีปริมาณโปรตีนเพียงหนึ่งในหกของใบมันสำปะหลังเท่านั้น (ไชยรัตน์, 2536) นอกจากใบมันสำปะหลังจะมีปริมาณโปรตีนในระดับสูงแล้ว Onwueme (1978) ยังพบว่าใบมันสำปะหลังมีไวตามินและสารให้สีอยู่ในปริมาณมากด้วย โดยมีไวตามินซี 200 มิลลิกรัม ไวตามินเอ 10,000 IU ไวตามินบี 1 (thiamine) 0.27 มิลลิกรัม ไวตามินบี 2 (riboflavin) 0.34 มิลลิกรัม แคโรทีน 53 มิลลิกรัม/100 กรัม และแซนโทฟิลล์ 92 มิลลิกรัม/100 กรัม

ตารางที่ 1 โภชนะของใบมันสำปะหลังเปรียบเทียบกับกากถั่วเหลือง

	ใบมันสำปะหลังแห้ง (%)[1/]	กากถั่วเหลือง (%)[2/]
ความชื้น	9.28	10
โปรตีน	23.10	44
เยื่อใย	21.11	7
ไขมัน	7.24	1
เถ้า	5.72	6
แคลเซียม	0.99	0.25
ฟอสฟอรัส	0.73	0.20
กรดไฮโดรไซยานิค	30.50	0

ที่มา: [1/] เจริญศักดิ์ (2532)

[2/] อุทัย (2529)

คุณภาพของโปรตีนในใบมันสำปะหลัง

ใบมันสำปะหลังแห้งพบว่ามีปริมาณโปรตีนสูงถึง 15 – 42 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างกันตามสายพันธุ์ สภาพแวดล้อม และการจัดการปลูกมันสำปะหลัง (Roger, 1959) นอกจากนี้ ไชยรัตน์ (2536) กล่าวว่าใบมันสำปะหลังเป็นแหล่งโปรตีนคุณภาพดี ราคาถูกเพราะมีกรดอะมิโนเป็นองค์ประกอบสูงกว่าในหัวมันสำปะหลัง (ตารางที่ 2) ถึงแม้ว่าใบมันสำปะหลังจะมีกรดอะมิโนชนิดต่างๆ ในปริมาณสูง แต่มีปริมาณกรดอะมิโนเมทไธโอนีนและทริปโตเฟนค่อนข้างต่ำ (Fasuyi, 2005) ดังนั้นในการนำใบมันสำปะหลังไปใช้จึงควรเสริมกรดอะมิโนเมทไธโอนีนเพื่อให้เพียงพอกับความต้องการของสัตว์

ตารางที่ 2 ปริมาณกรดอะมิโนในวัตถุดิบอาหารสัตว์

	มันเส้น (%)	ใบมันสำปะหลังแห้ง (%)	กากถั่วเหลือง (%)	ความต้องการของไก่เนื้อ (%)
ไลซีน	0.09	1.92	2.73	1.10
เมทไธโอนีน	0.03	0.15	0.59	0.78[1/]
ทริปโตเฟน	0.02	0.29	0.59	0.20
ทรีโอนีน	0.07	1.64	1.72	0.81
ไอโซลูซีน	0.07	1.74	2.17	0.76
อาร์จินีน	0.12	1.83	3.18	1.30
ลูซีน	0.12	1.35	3.39	1.28
วาลีน	0.09	0.96	2.24	0.78
ไกลซีน	0.08	1.94	1.83	1.10[2/]

หมายเหตุ [1/] เมทไธโอนีน+ซิสตีน

[2/] ไกลซีน+เซรีน

ที่มา: อุทัย (2529)

สารพิษไซยาโนจีนิค กลูโคไซด์ (Cyanogenic glucoside)

ทุกส่วนของมันสำปะหลังยกเว้นเมล็ด มีสารพิษไซยาโนจีนิค กลูโคไซด์ (cyanogenic glucoside) ความเข้มข้นของสารพิษไซยาโนจีนิค กลูโคไซด์ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ สิ่งแวดล้อม อายุของพืช Conn (1994) กล่าวว่าในหัวมันสำปะหลังมีของเหลวสีขาวข้นอยู่ใต้เปลือก เมื่อหัวมันถูกตัด สับ หรือหั่น จะมีน้ำยางสีขาวไหลออกมาพบว่าในน้ำยางนี้มีสารไซยาโนจีนิค กลูโคไซด์อยู่ 2 ชนิด คือ

1. ลินามาริน (linamarin)

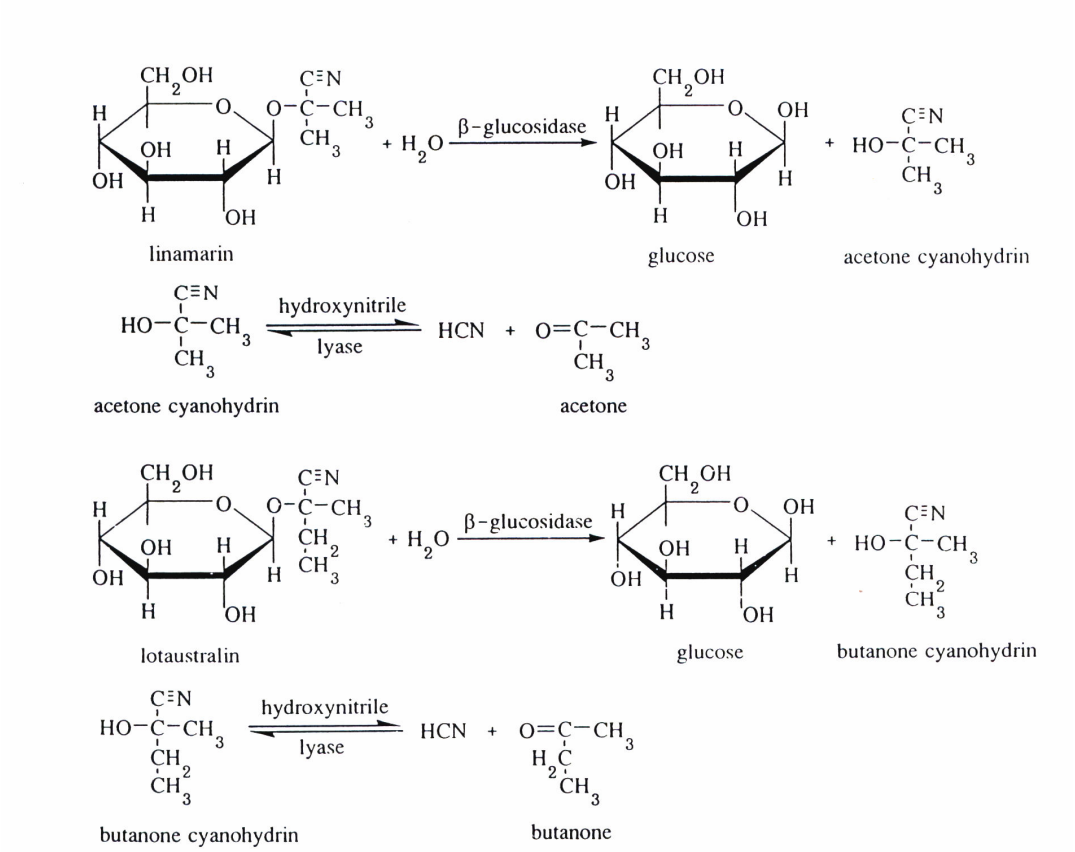
พบในปริมาณ 93 เปอร์เซ็นต์ ของกรดไฮโดรไซยานิคทั้งหมด มีชื่อทางเคมีว่า 2–hydroxyl isobutyronitrile-β-D-glycoside เป็นไกลโคไซด์ของอะซีโตน ไซยาโนไฮดริน (acetone cyanodrin) ซึ่งสังเคราะห์มาจากกรดอะมิโนวาลีน (Valine)

2. โลทอสตราลิน (lotoustralin)

พบในปริมาณ 7 เปอร์เซ็นต์ ของกรดไฮโดรไซยานิคทั้งหมด มีชื่อทางเคมีว่า 2-hydroxy-2-methylbutyronirtile-β-D-glycoside เป็นไกลโคไซด์ของเมทิลเอทิลคีโตน ไซยาโนไฮดริน (methylethylketone cyanohydrin) สังเคราะห์มาจากกรดอะมิโนไอโซลิวซีน (isoleucine)

สารพิษไซยาโนจีนิค กลูโคไซด์นี้อยู่ในเนื้อเยื่อของพืช เมื่อเนื้อเยื่อถูกทำลาย เช่น ถูกบด ถูกสับ หรือถูกเคี้ยว จะมีการสลายตัวของสารประกอบนี้ โดยกระบวนการไฮโดรไลซีส (hydrolysis) ของเอนไซม์ลินามาเรส (linamarase) และเอนไซม์ออกซีไนตริเลส (oxynitriase) หรือไฮดรอกซีไนไตรล์ไลเอส (hydroxynitrile lyase) ได้สารอะซีโตน ไซยาโนไฮดริน (acetone cyanohydrin) จากการสลายลินามาริน ซึ่งเป็นสารที่ไม่อยู่ตัวจะปลดปล่อยไซยาไนด์หรือกรดไฮโดรไซยานิค (hydrocyanic acid; HCN) ออกมาจากการสลายตัวเอง ได้ผลิตภัณฑ์ ดังภาพที่ 1 การที่พืชสามารถปล่อยกรดไฮโดรไซยานิคออกมา เรียกว่ากระบวนการไซยาโนเจเนซีส (cyanogenesis) ซึ่งโดยธรรมชาติการสร้าง HCN ของพืช เป็นการป้องกันตัวเองจากการถูกทำลายจากสัตว์และแมลง (Nartey, 1973) สารไซยาโนจีนิค กลูโคไซด์จะมีอยู่ตามส่วนต่าง ๆ ของมันสำปะหลัง เช่น ใบ ลำต้น และหัว เป็นต้น โดยพบอยู่ในส่วนของแวคิวโอล (vacuoles) ส่วนเอนไซม์ลินามาเรสพบอยู่ในไซโตซอล (cytosal) (Cheeke และ Shull, 1985) การสลายตัวของสารพิษนี้พบว่าปฏิกิริยาของเอนไซม์จะสูงในใบอ่อนที่เพิ่งเริ่มคลี่และส่วนเปลือกของหัวมัน ส่วนในเนื้อของหัวมันจะเกิดปฏิกิริยาช้ามาก ซึ่งในสภาพการเจริญเติบโตตามปกติจะไม่พบ HCN ที่ปล่อยออกมา แต่จะพบเมื่อส่วนของเนื้อเยื่อถูกทำลายหรือถูกบดขยี้ส่วนต่าง ๆ ซึ่งจะเป็นการเร่งให้เอนไซม์เข้าทำปฏิกิริยากับสารไซยาโนเจนิค กลูโคไซด์ และปลดปล่อย HCN ออกมา (พิชัย, 2528)

เจริญศักดิ์ (2532) กล่าวว่า พบ HCN ที่ส่วนเปลือกของหัวมากกว่าส่วนเนื้อมัน 5 – 10 เท่า ส่วนใบอ่อนมีมากกว่าใบแก่และเนื้อมัน ดังแสดงในตารางที่ 3 ปริมาณสารนี้จะแตกต่างกันไปตามสภาพแวดล้อม พันธุ์ และวิธีการวิเคราะห์ สารไซยาโนจีนิค ไกลโคไซด์นั้นสร้างขึ้นในส่วนของใบมันสำปะหลังแล้วลำเลียงไปเก็บยังส่วนต่างๆ ของต้นมันสำปะหลัง เช่น ที่รากหรือหัว เป็นต้น



ภาพที่ 1 การสลายตัวของสารพิษลินามารินและลอทอสตราลิน
ที่มา: Conn (1994)

พบว่า HCN ที่มีอยู่ในต้นมันสำปะหลังนั้นไม่เป็นอันตราย เนื่องจากต้นมันสำปะหลังสามารถเปลี่ยน HCN เป็นกรดอะมิโนที่เป็นประโยชน์ในการเจริญเติบโต โดยกรดอะมิโนเหล่านี้เป็นองค์ประกอบของโปรตีน คือ แอสพาราจีน (asparagine) แอสพาร์ติค (aspartic) กลูตามีน (glutamine) และกรดกลูตามิค (glutamic acid) ซึ่งกรดอะมิโนเหล่านี้เชื่อว่าเป็นสารสุดท้ายในขบวนการสังเคราะห์ไซยาโนจีนิค กลูโคไซด์ (พิชัย, 2528; เจริญศักดิ์, 2532)

ตารางที่ 3 ปริมาณกรดไฮโดรไซยานิคในผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง

ส่วนของพืช	ไกลโคไซด์		ลินามาเรส
	มก. HCN/กก. น้ำหนักสด	มก. HCN/กก. น้ำหนักแห้ง	มก. HCN/กก. น้ำหนักสด
ยอดอ่อน	490	1,360	730
ใบแก่	380	1,055	100
ก้านใบ	150	417	380
เปลือกลำต้น	535	1,486	81.5
เปลือกหัว	640	1,778	270
เนื้อหัว	140	390	9
มันเส้น	-	30	-
มันเม็ด	-	13.5	-

ที่มา: สาโรช และ เยาวมาลย์ (2531)

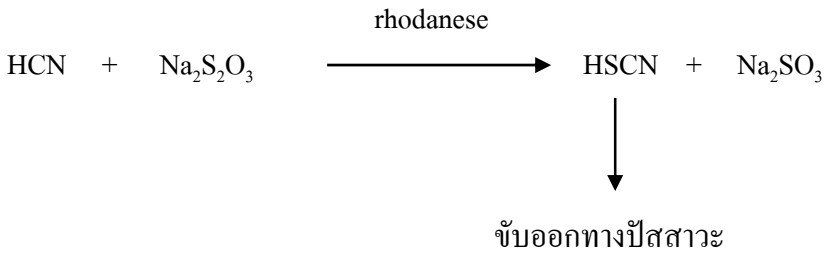
เมื่อสัตว์ได้รับสารพิษ HCN และถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย HCN จะทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ไซโตโครม ออกซิเดส (cytochorme oxidase) ในขบวนการขนส่งอิเลคตรอน (electron transport system) ทำให้เนื้อเยื่อขาดพลังงาน สมองขาดออกซิเจน เซลล์เหล่านั้นก็จะตายลงในที่สุด (อนุชา, 2544; สกล, 2547) HCN เป็นสารพิษที่มีการสลายตัวได้ง่ายและมีการสลายตัวไปบางส่วนก่อนที่สัตว์จะกินอาหารที่มีสารพิษเข้าไปจึงทำให้ความเป็นพิษลดน้อยลง อุทัย และ สุกัญญา (2547) กล่าวว่าใบมันสำปะหลังสดทั่วไปมีความชื้นสูงประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ และมีระดับ HCN อยู่สูง ไม่ควรนำมาใช้เลี้ยงสัตว์ในสภาพสด ควรทำให้แห้งโดยการผึ่งแดด 2 - 3 แดด จะสามารถลดระดับสารพิษลงเหลือในระดับที่ไม่เป็นพิษกับสัตว์ สอดคล้องกับ Fasuyi (2005) ทำการศึกษาพบว่าการสับใบมันสำปะหลังแล้วนำไปผึ่งแดงสามารถลดปริมาณ HCN ได้มากที่สุด (ตารางที่ 4) นอกจากนี้ในร่างกายของสัตว์ทั่วไปสามารถที่จะเปลี่ยน HCN ที่ได้รับในปริมาณเล็กน้อยให้เป็นสารอื่นที่ไม่เป็นพิษได้ โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์โรดานีส (rhodanese) ซึ่งมักพบมากที่ตับไต และต่อมไทรอยด์ เมื่อมีเอนไซม์ดังกล่าว HCN จะรวมตัวกับสารประกอบไธโอซัลเฟต

(thiosulfate; $S_2O^{2-}_3$) ได้สารประกอบไธโอไซยาเนต (thiocyanate; SCN^-) ที่มีพิษน้อยกว่า HCN ประมาณ 200 เท่า และจะถูกขับออกจากร่างกายทางปัสสาวะ ดังภาพที่ 2 (พิชัย, 2528; เจริญศักดิ์, 2532)

ตารางที่ 4 ปริมาณกรดไฮโดรไซยานิคในใบมันสำปะหลัง

ใบมันสำปะหลัง	ปริมาณ HCN (%)
ใบมันสำปะหลังสด	100
ใบมันสำปะหลังผึ่งแดด 2-3 วัน	4.1
ใบมันสำปะหลังอบแห้ง 80-90 °C 24 ชั่วโมง	61.6
ใบมันสำปะหลังอบด้วยไอน้ำ 30 นาที	59
ใบมันสำปะหลังสับ	47.5
ใบมันสำปะหลังอบด้วยไอน้ำ+ ผึ่งแดด	44.3
ใบมันสำปะหลังสับ+ผึ่งแดด	3.7

ที่มา: Fasuyi (2005)



ภาพที่ 2 การลดความเป็นพิษกรดไฮโดรไซยานิคในร่างกาย
ที่มา: เจริญศักดิ์ (2532)

ระบบภูมิคุ้มกัน

สุทธิพันธ์ (2541) กล่าวว่า ภูมิคุ้มกัน (immune) หมายถึง กลไกตามธรรมชาติที่ทำให้ร่างกายสามารถจำสิ่งแปลกปลอมได้และพยายามกำจัดสิ่งแปลกปลอมนั้นด้วยวิธีการต่างๆ โดยหน้าที่ของระบบภูมิคุ้มกันแบ่งได้เป็น 3 อย่างคือ ป้องกันร่างกายและเพิ่มความต้านทานของร่างกายต่อสิ่งแปลกปลอมภายนอกที่เข้าสู่ร่างกาย เพื่อกำจัดเซลล์ปกติของร่างกายที่หมดอายุ และคอยกำจัดเซลล์ที่มีการเปลี่ยนแปลงผิดไปจากปกติ กิติ (2527) แบ่งการป้องกันร่างกายออกเป็น 2 ชนิด คือ

1. ระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง (Non-specific immunity) ทำงานแบบไม่เจาะจง ได้แก่ physiological barrier, phagocytosis เป็นต้น เริ่มทำงานเมื่อมีสิ่งแปลกปลอมเข้าสู่ร่างกาย อาจมีประสิทธิภาพน้อยกว่าแต่เร็วกว่า

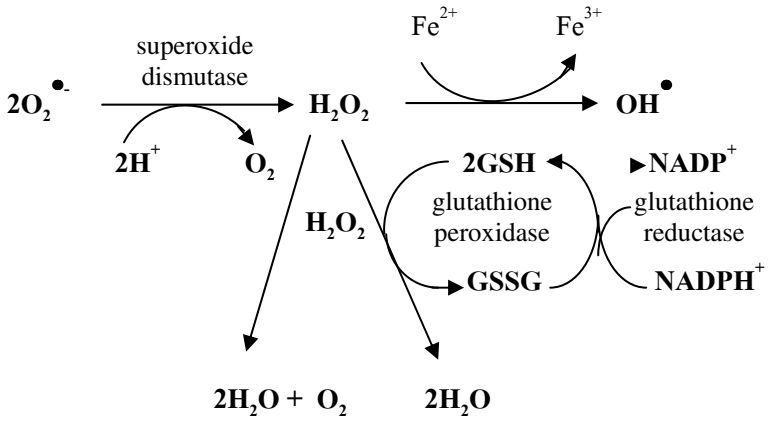
2. ระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจง (Specific immunity) เป็นภูมิคุ้มกันชนิดที่ต้องใช้เวลาสร้างประมาณ 4-5 วัน แต่มีความจำเพาะต่อเชื้อโรคสูง แบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ

2.1 Humoral immunity คือแอนติบอดีที่ร่างกายสร้างขึ้นเพื่อทำการต่อต้านสิ่งแปลกปลอม Tizard (2004) กล่าวว่า แอนติบอดี ผลิตจาก B-cell เรียกว่า อิมมูโนโกลบูลิน (Ig) ประกอบไปด้วย Ig 5 ชนิด คือ IgA, IgG, IgM, IgD และ IgE

2.2 Cell-mediated immunity (CMI) เป็นระบบภูมิคุ้มกันที่สร้างขึ้นภายในเซลล์น้ำเหลือง ทำให้เซลล์เหล่านี้มีความสามารถในการต่อต้านสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย เซลล์ที่มีบทบาทนี้คือ T lymphocyte (T-cell) เมื่อ T-cell ถูกกระตุ้นด้วยแอนติเจนแล้วจะมี cytotoxic T lymphocyte ซึ่งสามารถกำจัดแอนติเจนที่เข้าสู่ร่างกาย จากนั้น T-cell จำนวนหนึ่งจะกลายเป็น memory cell ซึ่งสามารถจดจำแอนติเจนชนิดนั้น ๆ ได้ และเมื่อแอนติเจนชนิดนี้เข้าสู่ร่างกายอีกครั้ง T-cell จะสามารถตอบสนองต่อการกระตุ้นได้อย่างรวดเร็ว และมีประสิทธิภาพมากกว่าเมื่อเทียบกับการพบกับแอนติเจนนั้น ๆ ในครั้งแรก (องอาจ, 2542)

อนุมูลอิสระในร่างกาย

อนุมูลอิสระในร่างกายเกิดได้จากการเมแทบอลิซึม และเกิดจากปัจจัยภายนอก เช่น มลภาวะและความเครียด เป็นต้น อนุมูลอิสระเป็นโมเลกุลหรืออิออนที่มีอิเล็คตรอนโดดเดี่ยว เป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและสามารถเกิดปฏิกิริยาเคมีได้ง่าย อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นโดยส่วนใหญ่เป็นอนุมูลอิสระที่มีออกซิเจนเป็นส่วนประกอบ (reactive oxygen species; ROS) ร่างกายสามารถกำจัดได้โดยใช้ระบบของกลูตาไธโอน (glutathione; GSH) ซึ่งเป็นสารประกอบประเภทไตรเปปไทด์ (tripeptide) ประกอบด้วยกรดอะมิโน 3 ชนิด คือ ไกลซีน (glycine) ซีสทีอีน (cysteine) และ กรดกลูตามิก (glutamic acid) (มโนวิช, 2549; Kidd, 1997) โดยเอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (superoxide dismutase; SOD) จะเปลี่ยนซุปเปอร์ออกไซด์แรดิเคิล (superoxide radical; $O_2^{\bullet -}$) ให้เป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogenperoxide; H_2O_2) จากนั้นเอนไซม์แคตะเลส (catalase; CAT) จะเปลี่ยน H_2O_2 ให้เป็นน้ำ เช่นเดียวกันเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase; GPx) จะเร่งปฏิกิริยาเปลี่ยนจากกลูตาไธโอนเป็นกลูตาไธโอนไดซัลไฟด์ (glutathione disulfide; GSSG) ซึ่งสามารถเปลี่ยนกลับมาเป็น GSH ได้โดยเอนไซม์กลูตาไธโอนรีดักเตส (glutathione reductase; GR) และนิโคตินาไมด์ อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ ฟอสเฟต (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; NADPH) ที่ได้จากกระบวนการ pentose phosphate pathway (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 การกำจัดอนุมูลอิสระ

ที่มา: Marks *et al.* (1996)

แต่หากเกิดภาวะที่มีสารอนุมูลอิสระในปริมาณมากเกินความสามารถของร่างกายในการกำจัด จะส่งผลให้เกิดความเครียดจากภาวะออกซิเดชั่น (oxidative stress) (Halliwell and Gutteridge, 1989) อนุมูลอิสระเหล่านี้สามารถทำอันตรายต่อสารชีวโมเลกุลต่างๆ ในเซลล์ เช่น ดีเอ็นเอ โปรตีน และไขมัน (Dorge, 2002) โดยเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน ซึ่งนำไปสู่การทำงานที่ผิดปกติของออร์แกเนลล์และทำให้เกิดการตายของเซลล์ได้ นอกจากนี้อนุมูลอิสระที่อยู่ใกล้กับเยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (polyunsaturated fatty acid) เป็นองค์ประกอบ จะเกิดลิพิด เปอร์ออกซิเดชั่น (lipid peroxidation) สายของกรดไขมันนั้นเกิดการแตกแยก (ปนัดดา, 2546; Grune *et al*., 1997) ส่งผลให้เกิดการทำลายโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ เป็นสาเหตุของการเสื่อมของเซลล์และเซลล์ตายในที่สุด จึงส่งผลให้ร่างกายอ่อนแอ (พรทิพย์, 2549)

ดังนั้นหากให้สัตว์ได้รับสารที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้สารชีวโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์ไม่ถูกทำลาย เซลล์สามารถดำเนินกิจกรรมได้ตามปกติ ไม่เสื่อมสภาพเร็ว สัตว์จึงมีสุขภาพที่ดีขึ้น สารที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี เช่น กลุ่มอนุพันธ์ของ Isoprenoid เช่น แคโรทีนอยด์ (carotenoid) และ ไวตามินอี (tocopherol) สารในกลุ่มฟีนอล(phenolic compound) ซึ่งประกอบด้วยกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenol) และฟลาโวนอยด์ (flavonoid) เป็นต้น (นวลจันทร์ และคณะ, 2548)

สุรีย์วรรณ (2549) รายงานว่า ให้แม่โครีดนมกินใบมันสำปะหลังแห้ง 4 ระดับ คือ 0, 1, 2 และ 3 กิโลกรัมต่อวัน ร่วมกับอาหารข้นและหญ้าหมัก พบว่าปริมาณไซยาไนด์ในใบมันสำปะหลังแห้งที่นำมาใช้มีค่าเฉลี่ย 112.29 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ppm) เอนไซม์ของจุลินทรีย์ในรูเมนและของพืชที่โคกินเข้าไป จะเร่งปฏิกิริยาการสลายสาร cyanogenic glucoside เป็นไซยาไนด์ และถูกดูดซึมได้อย่างรวดเร็ว ไซยาไนด์ที่ดูดซึมเข้าสู่ร่างกายโคนั้น จะถูกลดความเป็นพิษโดยรวมกับสารไธโอซิสเตอีน หรือไธโอซัลเฟตได้สารไธโอไซยาเนท จากการทดลองพบว่ามีไธโอไซยาเนทในน้ำนมเฉลี่ยตลอดระยะการทดลองเท่ากับ 6.99, 13.57, 14.89 และ 15.90 ppm ตามลำดับ มีรายงานว่าปริมาณไธโอไซยาเนทในน้ำนม 10-15 ppm เหมาะสมเพียงพอต่อการกระตุ้นการทำงานของระบบแลคโตเพอร์ออกซิเดสที่ใช้ในการต่อต้าน ยับยั้งจุลินทรีย์ในน้ำนมดิบ จากการทดลองพบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและโคไลฟอร์มในน้ำนมดิบของแม่โคที่ได้รับใบมันสำปะหลังแห้งลดลงกว่าน้ำนมดิบของแม่โคที่ได้รับอาหารปกติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) เช่นเดียวกับการรายงานของ ศิริรัตน์ (2546) ศึกษาผลการเพิ่มระดับมันเส้นในอาหารผสมเสร็จในระดับ 0, 12.6, 25.2 และ 37.7 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณไธโอไซยาเนทในน้ำนมดิบ

เพิ่มขึ้นจาก 7.19 ppm เป็น 8.72, 11.19 และ 11.62 ppm ตามลำดับ ส่วนปริมาณจุลินทรีย์รวมทั้งโคไลฟอร์มมีแนวโน้มลดลง ส่งผลให้น้ำนมดิบมีคุณภาพดีขึ้น

นอกจากนี้ในใบมันสำปะหลังยังพบสารพิษแทนนิน ซึ่งจะเป็นพิษกับสัตว์กระเพาะเดี่ยว แต่ในสัตว์กระเพาะรวมนั้น การได้รับแทนนินในปริมาณน้อยกลับเป็นประโยชน์ โดยพบว่า condensed tannin นั้นถูก hydrolyze ได้ยากด้วยกรดหรือเอนไซม์ และละลายน้ำได้น้อย กฤษฎา (2526) กล่าวว่าแทนนินจะช่วยป้องกันไม่ให้โปรตีนในอาหารถูกทำลายโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน แทนนินที่มีอยู่ตามธรรมชาติในอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์เช่นใบมันสำปะหลังจะเข้ารวมตัวกับโปรตีนในกระเพาะรูเมนอย่างเหนียวแน่นที่ระดับ pH 6.5 และแยกตัวออกจากกันที่ระดับ pH 2.5 ภายใน abomasums โปรตีนจึงเคลื่อนเข้าสู่ลำไส้เล็กโดยไม่ถูกจุลินรีย์ในกระเพาะรูเมนย่อย โอภาส (2547) กล่าวว่าแทนนินมีอยู่ในใบมันสำปะหลัง 0.31- 0.34 % ของวัตถุแห้ง จะสามารถช่วยป้องกันโปรตีนจากการบดเคี้ยว และจากการย่อยด้วยจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน นอกจากนี้แทนนินยังสามารถใช้เป็นยาถ่ายพยาธิภายในของสัตว์กระเพาะรวมได้โดยจะมีผลต่อผิวหนังของพยาธิทำให้เกิดความระคายเคืองและไม่สามารถเกาะผนังลำไส้ได้

สารออกฤทธิ์อื่นๆ ที่มีในพืชตระกูล Euphorbiaceae

Euphorbia หมายถึงพืชในเขตร้อนที่มีน้ำยางเป็นสีขาวคล้ายน้ำนม ซึ่งมันสำปะหลังก็เป็นพืชที่อยู่ในตระกูลเดียวกันนี้ และพบว่ามีพืชหลายชนิดในประเทศไทยที่อยู่ในตระกูลนี้ เช่น สลัดได น้ำนมราชสีห์ มะพร้าวนกเขา หญ้าน้ำหมึก ใบต่างดอก ลูกเขยตายแม่ยายทำศพ หญ้ายางส้มเช้า และพญาไร้ใบ เป็นต้น มีรายงานว่าน้ำยางของพืชใน Family Euphorbiaceae สามารถนำมาใช้เป็นยาได้โดยใช้เป็นยาระบาย และใช้ต่อต้านแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังใช้รักษาบาดแผลอักเสบที่ผิวหนังได้ พืชในตระกูลนี้หลาย species พบว่าใบสามารถรักษาโรคหอบได้ บาง species นำมาสกัดใช้เป็นยาลดไข้ รักษาอาการอักเสบของลำไส้ อาการบวมน้ำได้ ซึ่งสารสกัดที่นำมาใช้เป็นยาเหล่านี้เป็นผลมาจากสาร quercitrin และ flavanoids เป็นต้น (Thin and Sosef, 1999)

สารสกัดของ *E. hirta* แสดงให้เห็นว่าสามารถต่อต้านแบคทีเรียจำพวก *Candida albicans , Escherichia coli* และ *Staphylococus aureus* ได้ (Thin and Sosef, 1999) พืชที่มีในประเทศไทย เช่น น้ำนมราชสีห์มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาคือ กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ทำให้แผลหายเร็ว แก้ท้องเสีย ลดอาการบวม ลดฤทธิ์ไข้และต้านเชื้อแบคทีเรีย เป็นต้น ลูกเขยตายแม่ยายทำศพ ใช้แก้พิษงู พิษฝีภายใน (กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก, 2548) อย่างไรก็ตามน้ำยางของ

พืชเหล่านี้หากสัมผัสจะก่อให้เกิดความระคายเคืองสูง หากกินเข้าไปจะทำให้อาเจียนและถ่ายท้อง (Thin and Sosef, 1999) ในส่วนของใบมันสำปะหลังนั้นพบว่า ยังไม่ข้อมูลมีการศึกษาถึงองค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ธรรมชาติที่มีในใบมันสำปะหลัง ดังนั้นการวิจัยในครั้งนี้จึงทำการศึกษาถึงสารออกฤทธิ์ธรรมชาติที่คาดว่าน่าจะมีในใบมันสำปะหลัง ซึ่งมีผลต่อระบบการต้านอนุมูลอิสระในร่างกายสัตว์

สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound)

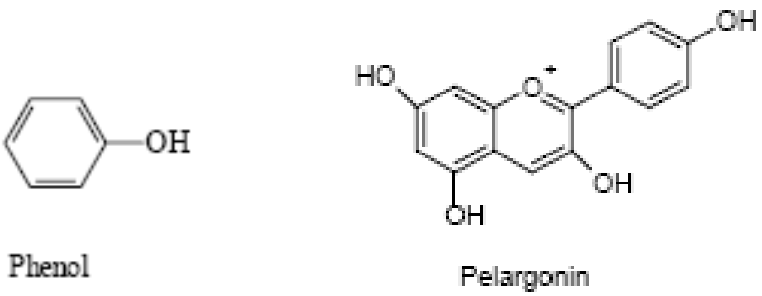
สารประกอบฟีนอลิก คือสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่มีหมู่อะโรมาติกและมีหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อย 1 หมู่ เป็นองค์ประกอบ (ภาพที่ 4) สารประกอบฟีนอลสามารถแบ่งออกเป็นหลายกลุ่ม เช่น flavonoids, simple monocyclic phenol, phenyl propanoid, phenolic quinone, polyphenolics, lignin และ tannin เป็นต้น (Harborne, 1998; Padua *et al.*, 1999) สามารถแบ่งสารประกอบฟีนอลเป็น 3 ชนิด ตามจำนวนวงแหวนฟีนอลดังนี้ (Harborne, 1989)

1. มอนอไซคลิกฟีนอล (Monocyclic phenols) ประกอบด้วยวงแหวนฟีนอล 1 วง ได้แก่ ฟีนอล (phenol) เคติซอล (catechol) ไฮโดรควีนโนน (hydro-quinone)และ พารา-ไฮดรอกซีซินนามิก แอซิต (p-hydroxycinnamic acid) เป็นต้น

2. ไดไซคลิกฟีนอล (Dicyclic phenols) ประกอบด้วยวงแหวนฟีนอล 2 วง ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และ ลิกแนน (lignans) เป็นต้น

3. โพลีไซคลิกฟีนอล (Polycyclic phenols) หรือ โพลีฟีนอล (polyphenol) ได้แก่ ลิกนิน (lignins) เมลานิน (melanins) และแทนนิน (tannin) เป็นต้น

กลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกมีหลายชนิดซึ่งมีหน้าที่แตกต่างกัน บางชนิดยังไม่ทราบหน้าที่ที่แน่นอน พบว่าสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลลิก และแทนนิน เป็นต้น สารประกอบฟีนอลิกจะป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นโดยทำหน้าที่เป็นตัวให้ไฮโดรเจน อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาจะถูกทำให้เป็นสารที่มีความเสถียร นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิก ยังทำหน้าที่เป็น chelating agent คอยดักจับไอออนของโลหะในโมเลกุล ซึ่งศักยภาพของสารประกอบฟีนอลิกที่เป็นตัวต้านอนุมูลอิสระขึ้นกับค่า redox potential ของหมู่ hydroxyl ในโมเลกุล (Sumere, 1989)



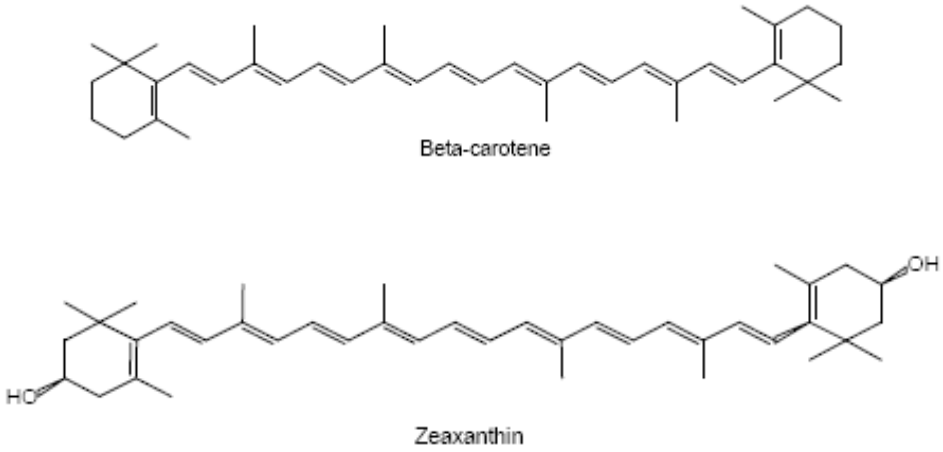
ภาพที่ 4 โครงสร้างของฟีนอลและเพลาร์โกนิน
ที่มา: Sumere (1989)

แคโรทีนอยด์ (carotenoid)

แคโรทีนอยด์มีโครงสร้างที่ประกอบด้วยหน่วยไอโซพรีน (isoprene unit) จำนวน 8 หน่วย (C_{40}) ต่อกันด้วยพันธะโควาเลนต์ และเกิดคอนจูเกชั่นของพันธะคู่เป็นสายยาว (Padua *et al.*, 1999) โดยระบบคอนจูเกชั่นทำให้แคโรทีนอยด์สามารถดูดกลืนแสงอัลตาไวโอเลตและแสงสีขาว ส่งผลให้เป็นสารที่มีสี มีช่วงการดูดกลืนแสงอยู่ระหว่าง 400-500 นาโนเมตร โดยมีพีคหลักอยู่ในช่วง 450 นาโนเมตร (Harborne, 1998) แคโรทีนอยด์มีคุณสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่น แบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม (วีระศักดิ์, 2548) คือ

1. hydrogenated carotenoid derivatives คือ กลุ่มของแคโรทีน (carotene) เป็นโมเลกุลที่ประกอบด้วยสายไฮโดรคาร์บอน จึงทำให้เป็นสารที่ไม่มีขั้วและละลายได้ในไขมัน เช่น เบต้าแคโรทีน (beta carotene) และ ไลโคพีน (lycopene) เป็นต้น (ภาพที่ 5)

2. oxygenated carotenoid derivatives คือ กลุ่มของแซนโทฟิลล์ (xanthophyll) มีอะตอมของออกซิเจนอยู่ในโมเลกุล จึงทำให้มีขั้วมากกว่าและละลายในไขมันได้น้อยกว่ากลุ่มแรก เช่น ซีแซนทิน (zeaxanthin) และ ลูทีน (lutein) เป็นต้น (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 โครงสร้างของเบต้าแคโรทีนและซีแซนทิน
ที่มา: วีระศักดิ์ (2548)

วีระศักดิ์ (2548) กล่าวว่า แคโรทีนจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเนื่องจากสามารถหยุดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระได้ โดยใช้กลไกทางฟิสิกส์ คือ อนุมูลอิสระที่มีพลังงานสูงจะถ่ายเทพลังงานให้กับเบต้าแคโรทีน ซึ่งเป็นสารที่มีอิเล็กตรอนในโครงสร้างสูงและสามารถดูดกลืนพลังงานได้ดี ได้ผลิตภัณฑ์ของออกซิเจนที่มีพลังงานต่ำลงและเบต้าแคโรทีนพลังงานสูง จากนั้นเบต้าแคโรทีนจะคายพลังงานออกมาในรูปของความร้อน ซึ่งสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ตัวอื่นๆ ก็มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยกลไกนี้เช่นเดียวกัน

วิภาสิริ และคณะ (2548) ศึกษาถึงการใช้ใบมันสำปะหลังแห้งเปรียบเทียบกับใบกระถินแห้ง 4 % เป็นแหล่งสารให้สีในสูตรอาหารไก่ไข่ที่มีข้าวโพดและมันสำปะหลังเป็นแหล่งพลังงานหลัก พบว่าแม่ไก่ที่กินอาหารสูตรที่ใช้ใบมันสำปะหลังมีสีของไข่แดงเข้มกว่าสูตรอาหารที่มีการใช้ใบกระถิน ถึงแม้ว่าแม่ไก่จะมีปริมาณการกินอาหารสูตรใบมันสำปะหลังต่ำกว่าอาหารสูตรใบกระถิน อาจเนื่องจากใบมันสำปะหลังมีสารแคโรทีนและแซนโทฟิลล์ ซึ่งเป็นสารให้สีในไข่แดง

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

การทดลองที่ 1 การศึกษาผลการใช้ใบมันสำปะหลังแห้งต่อการตอบสนองของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันในไก่กระทง ทั้งระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจงและไม่จำเพาะเจาะจง ระดับกลูตาไธโอนและแอนติออกซิแดนซ์รวม

1. สัตว์ทดลอง

ไก่กระทงคละเพศ อายุ 1 วัน จำนวน 720 ตัว

2. อาหารทดลอง

อาหารที่ใช้ทดลองเป็นสูตรอาหารไก่กระทงที่มีกากถั่วเหลืองและใบมันสำปะหลังแห้งเป็นแหล่งโปรตีน โดยสูตรอาหารทดลองมี 4 สูตรดังนี้

สูตรที่ 1 อาหารใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีน
สูตรที่ 2 อาหารใช้กากถั่วเหลืองร่วมกับใบมันสำปะหลังแห้ง 3 % ในสูตรอาหาร
สูตรที่ 3 อาหารใช้กากถั่วเหลืองร่วมกับใบมันสำปะหลังแห้ง 5 % ในสูตรอาหาร
สูตรที่ 4 อาหารใช้กากถั่วเหลืองร่วมกับใบมันสำปะหลังแห้ง 7 % ในสูตรอาหาร

อาหารทุกสูตรทำการคำนวณให้มีองค์ประกอบทางเคมีครบตามความต้องการของไก่กระทง (National Research Council [NRC], 1994) ดังตารางที่ 5, 6 และ 7

ตารางที่ 5 องค์ประกอบทางโภชนะในสูตรอาหารไก่กระทงอายุ 0-19 วัน

	ปริมาณใบมันสำปะหลังแห้งที่ใช้ (%)			
วัตถุดิบ	0	3	5	7
ข้าวโพด	48.65	46.77	45.38	44.03
กากถั่วเหลือง	42.75	41.23	40.62	39.78
ใบมันสำปะหลังแห้ง	0	3	5	7
น้ำมันรำ	4.00	4.40	4.50	4.70
เปลือกหอย	1.60	1.50	1.50	1.50
โมโนแคลเซียมฟอสเฟต	1.70	1.70	1.70	1.70
ดีแอล-เมทไธโอนีน	0.30	0.40	0.30	0.30
เกลือ	0.50	0.50	0.50	0.50
พรีมิกซ์	0.50	0.50	0.50	0.50
รวม	100	100	100	100
องค์ประกอบทางโภชนะโดยการคำนวณ (%)				
โปรตีน	23	23	23	23
พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้	3,199.18	3,203.08	3,197.82	3,195.89
แคลเซียม	1.03	1.02	1.04	1.06
ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้	0.51	0.51	0.51	0.50
เยื่อใย	4.21	4.84	5.28	5.70
ไลซีน	1.29	1.30	1.32	1.33
เมทไธโอนีน+ซีสทีน	1.03	1.11	1.00	0.99
ทริปโตเฟน	0.30	0.29	0.29	0.29
ทรีโอนีน	0.89	0.91	0.93	0.94

ตารางที่ 6 องค์ประกอบทางโภชนะในสูตรอาหารไก่กระทงอายุ 20-35 วัน

	ปริมาณใบมันสำปะหลังแห้งที่ใช้ (%)			
วัตถุดิบ	0	3	5	7
ข้าวโพด	58.48	56.05	54.69	53.46
กากถั่วเหลือง	33.92	32.95	32.11	31.24
ใบมันสำปะหลังแห้ง	0	3	5	7
น้ำมันรำ	3.00	3.50	3.70	3.80
เปลือกหอย	1.50	1.50	1.50	1.50
โมโนแคลเซียมฟอสเฟต	1.70	1.70	1.70	1.70
ดีแอล-เมทไธโอนีน	0.40	0.30	0.30	0.30
เกลือ	0.50	0.50	0.50	0.50
พรีมิกซ์	0.50	0.50	0.50	0.50
รวม	100	100	100	100
องค์ประกอบทางโภชนะโดยการคำนวณ (%)				
โปรตีน	20	20	20	20
พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้	3,193.00	3,202.71	3,200.77	3,193.52
แคลเซียม	0.97	1.00	1.02	1.04
ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้	0.50	0.50	0.50	0.50
เยื่อใย	3.84	4.49	4.91	5.34
ไลซีน	1.07	1.10	1.11	1.12
เมทไธโอนีน+ซีสทีน	1.05	0.94	0.93	0.92
ทริปโตเฟน	0.25	0.25	0.25	0.25
ทรีโอนีน	0.77	0.80	0.81	0.82

ตารางที่ 7 องค์ประกอบทางโภชนะในสูตรอาหารไก่กระทงอายุ 36-42 วัน

	ปริมาณใบมันสำปะหลังแห้งที่ใช้ (%)			
วัตถุดิบ	0	3	5	7
ข้าวโพด	64.16	62.21	61.10	59.63
กากถั่วเหลือง	28.34	27.29	26.40	25.58
ใบมันสำปะหลังแห้ง	0	3	5	7
น้ำมันรำ	2.70	3.00	3.00	3.30
เปลือกหอย	1.70	1.50	1.50	1.50
โมโนแคลเซียมฟอสเฟต	1.70	1.70	1.70	1.70
ดีแอล-เมทไธโอนีน	0.40	0.30	0.30	0.30
เกลือ	0.50	0.50	0.50	0.50
พรีมิกซ์	0.50	0.50	0.50	0.50
รวม	100	100	100	100
องค์ประกอบทางโภชนะโดยการคำนวณ (%)				
โปรตีน	18	18	18	18
พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้	3,200.37	3,206.44	3,193.89	3,197.26
แคลเซียม	1.03	0.99	1.01	1.03
ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้	0.49	0.49	0.49	0.49
เยื่อใย	3.59	4.25	4.68	5.10
ไลซีน	0.93	0.96	0.97	0.98
เมทไธโอนีน+ซีสทีน	1.00	0.89	0.88	0.87
ทริปโตเฟน	0.22	0.23	0.23	0.22
ทรีโอนีน	0.69	0.72	0.73	0.75

3. อุปกรณ์และสารเคมี

3.1 อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างเลือดของไก่กระทง

3.1.1 กระบอกฉีดยาขนาด 5 และ 10 มิลลิลิตร

3.1.2 เข็มฉีดยาขนาด 1 นิ้ว เบอร์ 24 และเบอร์ 23

3.1.3 heparin

3.1.4 แอลกอฮอล์ 70%

3.1.5 สำลี

3.1.6 ถุงมือ

3.2 อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับศึกษาการทำงานของแมคโครฟาจ (macrophage)

3.2.1 3% Sephadex G50 (Sigma)

3.2.2 phosphate buffer saline (PBS) pH 7.4

3.2.3 iscove modified dulbecco medium (IMDM) (Gibthai co., ltd.)

3.2.4 opsonized sheep red blood cell และ unopsonized sheep red blood cell

3.2.5 centrifuge tube ขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร

3.2.6 pasteur pipettle

3.2.7 microtube ขนาด 2 มิลลิลิตร

3.2.8 สีย้อม wright giemsa straining

3.2.9 hematocytometer และ hematocrit tube

3.2.10 centrifuge

3.2.11 auto-pipette (single channel)

3.2.12 สไลด์

3.2.13 กล้องจุลทรรศน์ BX50

3.2.14 อุปกรณ์ผ่าตัด

3.2.15 เครื่องชั่งสารเคมี

3.3 อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับศึกษาระดับแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงแกะโดยวิธี Haemagglutination Test

3.3.1 phosphate buffer saline (PBS) pH 7.4

3.3.2 alsever's solution

3.3.3 0.5% sheep red blood cell (SRBC)

3.3.4 96 well microtitre plate V-shape bottom

3.3.5 micro dilution tube

3.3.6 hematocytometer และ hematocrit tube

3.3.7 vortex

3.3.8 auto-pipette (single channel และ multi-channels)

3.3.9 ตู้อบควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

3.4 อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับศึกษาการเจริญพัฒนาของเซลล์ลิมโฟซัยท์ชนิดที (T-lymphocyte)

3.4.1 iscove modified dulbecco medium (IMDM) (Gibthai co., ltd.)

3.4.2 ficoll-paque plus (Amersham Bioscience)

3.4.3 fetal calf serum

3.4.4 antibiotic (penicillin และ streptomycin)

3.4.5 concanavalin A (Sigma)

3.4.6 WST-8 working solution (cell counting kit-8; Dojindo Molecular Technologies Incorporation)

3.4.7 phosphate buffer saline (PBS) pH 7.4

3.4.8 7% sheep red blood cell (SRBC)

3.4.9 centrifuge tube ขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร

3.4.10 microtube ขนาด 2 มิลลิลิตร

3.4.11 pasteur pipette

3.4.12 hematocytometer และ hematocrit tube

3.4.13 flat-bottomed 96 well plates

3.4.14 auto-pipette (single channel และ multi-channels)

3.4.15 centrifuge

3.4.16 biohazard hood

3.4.17 CO_2 incubator

3.4.18 counting chamber

3.4.19 กล้องจุลทรรศน์

3.4.20 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (ELIZA reader)

3.5 อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับศึกษาปริมาณกลูตาไธโอน (glutathione) ในเม็ดเลือดแดงของไก่กระทง

3.5.1 glutathione assay kit (Cayman Chemical)

3.5.2 metaphosphoric acid (Aldrich)

3.5.3 triethanolamine (Aldrich)

3.5.4 HPLC-grade water

3.5.5 centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร

3.5.6 microtube ขนาด 2 มิลลิลิตร

3.5.7 pasteur pipette

3.5.8 auto-pipette (single channel และ multi-channels)

3.5.9 เครื่อง vortex

3.5.10 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (ELIZA reader)

3.5.11 ตู้ดูดไอสารพิษ (fume hood)

3.5.12 เครื่องชั่งสารเคมี

3.6 อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับศึกษาปริมาณ total antioxidant ในพลาสม่าของไก่กระทง

3.6.1 acetic acid (CH_3COOH)

3.6.2 sodium acetate hydrated ($CH_3COONa•3H_2O$)

3.6.3 Iron (II) sulphate ($FeSO_4•7H_2O$)

3.6.4 Iron (III) chloride hydrated ($FeCl_3•6H_2O$)

3.6.5 2,4,6-Tri(2-pyridyl)-s-triazine ($C_{18}H_{12}N_6$) [TPTZ]

3.6.6 hydrochloric acid (HCl)

3.6.7 น้ำกลั่น

3.6.8 pH meter

3.6.9 เครื่องชั่งสารเคมี

3.6.10 ขวดเชิงปริมาตร ขนาด 10 และ 100 มิลลิลิตร (volumetric flask)

3.6.11 ปิเปตต์ (pipette)

3.6.12 centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร

3.6.13 vortex

3.6.14 auto-pipette (single channel และ multi-channels)

3.6.15 water bath

3.6.16 เครื่อง spectrophotometer

3.6.17 นาฬิกาจับเวลา

3.6.18 ตู้ดูดไอสารพิษ (fume hood)

3.7 เครื่องผสมอาหาร

การทดลองที่ 2 การศึกษาผลการใช้ใบมันสำปะหลังแห้งในสูตรอาหารต่อสมรรถภาพการผลิตใน ไก่กระทง

1. สัตว์ทดลอง

ไก่กระทงคละเพศ อายุ 1 วัน จำนวน 720 ตัว

2. อาหารทดลอง

อาหารที่ใช้ทดลองเป็นสูตรอาหารไก่กระทงที่มีกากถั่วเหลืองและใบมันสำปะหลังแห้งเป็นแหล่งโปรตีน โดยสูตรอาหารทดลองมี 4 สูตร ดังตารางที่ 5, 6 และ 7

3. อุปกรณ์และสารเคมี

3.1 โรงเรือนเปิดสำหรับเลี้ยงไก่
3.2 ตะข่ายสำหรับกั้นคอก
3.3 ถังใส่อาหารทดลอง
3.4 อุปกรณ์ให้น้ำ
3.5 หลอดไฟใช้กกลูกไก่ ตั้งแต่อายุ 1 วัน ถึง 3 สัปดาห์
3.6 เครื่องผสมอาหาร
3.7 เครื่องชั่ง
3.8 อุปการณ์และสารเคมีสำหรับวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและโภชนะของอาหารทดลอง

การทดลองที่ 3 การศึกษาหาองค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ธรรมชาติที่มีในใบมันสำปะหลัง

1. อุปกรณ์

1.1 ใบมันสำปะหลัง พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 จาก อ.เลาขวัญ จ.กาญจนบุรี

1.2 กระบอกตวงขนาด 10 และ 100 มิลลิลิตร (cylinder)

1.3 ขวดรูปชมพู่ขนาด 50 และ 250 มิลลิลิตร (erlenmeyer flask)

1.4 ขวดเชิงปริมาตรขนาด 10, 100 และ 250 มิลลิลิตร (volumetric flask)

1.5 บีกเกอร์ขนาด 100 และ 250 มิลลิลิตร (beaker)

1.6 หลอดหยด (dropper)

1.7 กรวยกรอง (funnel)

1.8 กระดาษกรอง Whatman No.1

1.9 ขวดไวอัลขนาด 15 มิลลิลิตร (vial)

1.10 ขวดโหลมีฝาปิด 50 มิลลิลิตร

1.11 แท่งแก้ว (stirring rod)

1.12 หลอดทดลอง (test tube)

1.13 ปิเปตต์ขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร (pipette)

1.14 บิวเรต (burette)

1.15 หลอดคะปิลารี (capirary tube)

1.16 เครื่องกลั่นสุญญากาศแบบลดความดัน (rotary evaporator)

1.17 โถดูดความชื้น (desicator)

1.18 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

1.19 ตู้อบลมร้อน (hot air oven)

1.20 เครื่องบด (blender)

1.21 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)

1.22 คอลัมน์แก้วขนาด 2×30 เซนติเมตร

1.23 สำลี

1.24 ตู้ดูดไอสารพิษ (fume hood)

1.25 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (T80 UV/VIS spectrophotometer)

1.26 เครื่องอินฟราเรดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์(infrared spectrophotometer model FTS-155)

2. สารเคมี

2.1 กรดแกลลิค (gallic acid)

2.2 กรดซัลฟูริก (sulfuric acid)

2.3 กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid)

2.4 เจลาติน 10 %

2.5 ซิลิกาเจล 60 ขนาด 70-230 mesh (silica gel 60)

2.6 โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride)

2.7 โซเดียมคาบอร์เนต (sodium carbonate)

2.8 ทรายละเอียด

2.9 น้ำดีไอออไนต์ (deionize water)

2.10 แผ่นอะลูมิเนียมเคลือบซิลิกาเจล 60

2.11 เฟอร์ริกคลอไรด์ (ferric chloride)

2.12 ลวดแมกนีเซียม

2.13 เมธานอล (methanol)

2.14 อะซิโตน (acetone)

2.15 เอทานอล (ethanol)

2.16 เอทิลอะซิเตต (ethyl acetate)

2.17 เฮกเซน (hexane)

2.18 Folin-Ciocalteu (phosphomolybdatephosphotungstate) reagent

วิธีการ

การทดลองที่ 1 การศึกษาผลการใช้ใบมันสำปะหลังแห้งต่อการตอบสนองของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันในไก่กระทง ทั้งระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจงและ ไม่จำเพาะเจาะจง ระดับกลูตาไธโอนและแอนติออกซิแดนซ์รวม

ศึกษาผลของการใช้ใบมันสำปะหลังในระดับต่าง ๆ ในรูปของอาหารอัดเม็ด ต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันโรคในไก่กระทงแบบจำเพาะเจาะจง (spicific immunity) โดยใช้การเจริญพัฒนาของเซลล์ lymphocyte เป็นตัวบ่งชี้การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ (cell-medieted immunity; CMI) ใช้ระดับภูมิคุ้มกันต่อแอนติบอดีเป็นตัวบ่งชี้การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันแบบสารน้ำ (humoral immunity) ใช้การทำงานของเซลล์ แมคโครฟาจในการจับกินสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกายเป็นตัวบ่งชี้การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง (non-specific immunity) ใช้ระดับ glutathione ในเม็ดเลือดแดงเป็นตัวบ่งชี้สภาวะของเซลล์ในไก่กระทง และใช้ค่า total antioxidant capacity (TAC) ในพลาสม่าเป็นตัวบ่งชี้ปริมาณแอนติออกซิแดนซ์ที่ได้รับจากอาหาร

1. แผนการทดลอง

ใช้แผนการทดลองแบบบล็อคสมบูรณ์ (Randomized Complete Blocks Design; RCBD) โดยใช้ลูกไก่กระทงคละเพศอายุ 1 วัน จำนวน 720 ตัว แบ่งออกเป็นสองกลุ่มการทดลอง โดยทดลองที่ระยะเวลาแตกต่างกัน แต่ละระยะเวลาใช้ลูกไก่กระทงแรกเกิดจำนวน 360 ตัว แบ่งการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม แต่ละกลุ่มประกอบไปด้วย 6 ซ้ำ ซ้ำละ 15 ตัว ไก่กระทงในแต่ละกลุ่มจะได้รับอาหารที่มีองค์ประกอบทางโภชนะตามความต้องการ ให้ไก่กระทงกินอาหารได้อย่างเต็มที่และให้น้ำสะอาดตลอดเวลา โดยใส่ภาชนะบรรจุน้ำวางไว้ภายในคอกสัตว์ทดลองและล้างทำความสะอาดภาชนะบรรจุน้ำทุกวัน

2. การบันทึกข้อมูล

ทำการบันทึกข้อมูลการทดลองตั้งแต่แรกเกิดจนถึงอายุ 35 วัน โดยสุ่มไก่กระทงในแต่ละซ้ำๆ ละ 1 ตัว มาเจาะเลือดเพื่อเก็บตัวอย่างเลือด ซีรั่มและพลาสม่า หลังจากเก็บเลือดแล้วคัดทิ้ง

2.1 ศึกษาการทำงานของเซลล์แมคโครฟาจ (macrophage)

เมื่อไก่มีอายุ 7 วัน ฉีด 3% Sephadex G50 ปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม เข้าช่องท้อง เพื่อกระตุ้นการทำงานของเซลล์แมคโครฟาจในการตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย ภายหลังการฉีด 72 ชั่วโมง ฆ่าไก่เพื่อเก็บของเหลวในช่องท้อง นำของเหลวที่ได้ตั้งทิ้งไว้ 5 - 10 นาที เพื่อตกตะกอน Sephadex ออกจากเซลล์แขวนลอย ปั่นเหวี่ยงด้วยแรง 400 *g* เป็นเวลา 10 นาที เพื่อตกตะกอนเซลล์แมคโครฟาจ ล้างเซลล์ที่ได้ด้วย PBS 2 ครั้ง จากนั้นทำเป็นเซลล์แขวนลอยในอาหารเลี้ยงเชื้อ Iscove Modified Dulbecco Medium (IMDM) หยดเซลล์ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงบน cover slip จำนวน 6 แผ่น เพื่อศึกษาการจับกิน opsonized sheep red blood cell (opsonized SRBC) และ unopsonized sheep red blood cell (unopsonized SRBC) ของเซลล์แมคโครฟาจ อย่างละ 3 แผ่น ตามลำดับ (Hiu-Tat *et al.,* 2001) บ่มเซลล์ในภาชนะปิดที่มีความชื้นที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที จากนั้นเติม 100 ไมโครลิตร opsonized SRBC หรือ unopsonized SRBC ลงบนเซลล์ หลังจากนั้น 1 ชั่วโมง ศึกษาการจับกินของเซลล์แมคโครฟาจ โดยส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ศึกษาจากเซลล์แมคโครฟาจจำนวน 100 เซลล์ บันทึกจำนวนเซลล์แมคโครฟาจที่กินและไม่กิน SRBC ทั้งสองแบบ นับจำนวนเซลล์ SRBC ที่ถูก 1 เซลล์แมคโครฟาจกิน

2.2 ศึกษาหาระดับภูมิคุ้มกันต่อเม็ดเลือดแดงแกะ

ฉีด 7% SRBC ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เข้ากระแสเลือดไก่ ที่อายุ 7 และ 14 วัน เมื่อไก่อายุ 0, 7 , 14 และ 21 วัน ภายหลังจากฉีด 7% SRBC ครั้งที่ 2 เก็บเลือดปริมาตร 2 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อเก็บตัวอย่างซีรั่ม นำไปตรวจหาค่าระดับภูมิคุ้มกันต่อเม็ดเลือดแดงแกะโดยวิธี Haemagglutination Test (HA test)

2.3 ศึกษาการเจริญพัฒนาของเซลล์ลิมโฟซัยท์ชนิดที (T-lymphocyte)

ฉีด 7% SRBC ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เข้ากระแสเลือดไก่ที่อายุ 7 และ 14 วัน เพื่อกระตุ้นการเจริญพัฒนาของเซลล์ลิมโฟซัยท์ ในการตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย เมื่อไก่อายุ 0 , 3 และ 7 วัน ภายหลังจากฉีด 7% SRBC ครั้งที่ 2 เก็บตัวอย่างเลือดปริมาตร 4 มิลลิลิตร ในหลอดฉีดยาที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (heparin) หลังจากนั้นนำตัวอย่างเลือดที่ได้มาทำการแยกเม็ดเลือดขาวโดยการใช้ ficoll-paque แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยแรง 400 *g* เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ล้างเม็ดเลือดขาวด้วย PBS 3 ครั้ง จากนั้นเตรียมตัวอย่างเซลล์

เพื่อตรวจหาการเจริญพัฒนาของเซลล์ลิมโฟซัยท์ ตามขั้นตอนของ Tadashi *et al.* (2002) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 นาโนเมตร

2.4 วิเคราะห์หาปริมาณกลูตาไธโอน (glutathione)

เมื่อไก่มีอายุ 21, 28 และ 35 วัน เก็บเลือดปริมาตร 2 มิลลิลิตร ในหลอดฉีดยาที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (heparin) นำตัวอย่างเลือดมาปั่นเหวี่ยงด้วยแรง 1,000 *g* ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แยกพลาสม่าและเซลล์ลิมโฟซัยท์ออก เติม HPLC-grade water แล้วปั่นเหวี่ยงด้วยแรง 10,000 *g* ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนใสด้านบน (erythocyte lysate) เพื่อวิเคราะห์ปริมาณกลูตาไธโอน โดยใช้ชุดทดสอบ glutathione assay kit นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปหาความเข้มข้นของกลูตาไธโอนโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

2.5 วิเคราะห์หาปริมาณแอนติออกซิแดนซ์รวม (total antioxidant capacity; TAC)

เมื่อไก่มีอายุ 21 , 28 และ 35 วัน เก็บเลือดปริมาตร 2 มิลลิลิตร ในหลอดฉีดยาที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (heparin) หลังจากนั้นนำตัวอย่างเลือดที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงด้วยแรง 1,000 *g* ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เก็บตัวอย่างพลาสม่าเพื่อนำไปวิเคราะห์หาค่า TAC ตามวิธีของ Benzie and Strain (1996) โดยวิธี Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) ซึ่ง FRAP reagent เตรียมได้จาก อัตราส่วนของ acetate buffer pH 3.6 : TPTZ (tripyridyltriazine) : Iron (III) chloride hexahydrate ในสัดส่วน 10 : 1 : 1 นำ FRAP reagent 3 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 300 ไมโครลิตร จากนั้นใส่ตัวอย่างพลาสม่า 100 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ทันทีและบันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่เวลา 4 นาที นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปหาความเข้มข้นของแอนติออกซิแดนซ์รวมโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Iron (II) sulphate

3. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้ไปทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยวิธีการ Analysis of Variance และทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

4. สถานที่ทำการทดลอง

4.1 โรงเรือนเลี้ยงสัตว์ทดลอง ศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตสัตว์ปีก สถาบันสุวรรณวาจกสิกิจเพื่อการค้นคว้าและพัฒนาปศุสัตว์และผลิตภัณฑ์สัตว์

4.2 ห้องปฏิบัติการไวรัสวิทยา ภาควิชาเวชศาสตร์และทรัพยากรการผลิตสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

4.3 ห้องปฏิบัติการซีรั่มวิทยา หน่วยงานชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

5. ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มการทดลอง : 17 กรกฎาคม 2549
สิ้นสุดการทดลอง : 5 พฤศจิกายน 2549

การทดลองที่ 2 การศึกษาผลการใช้ใบมันสำปะหลังแห้งในสูตรอาหารต่อสมรรถภาพการผลิตใน ไก่กระทง

ทำการศึกษาผลของการใช้ใบมันสำปะหลังแห้งในระดับที่แตกต่างกัน โดยเปรียบเทียบน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ยต่อตัว ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อและอัตราการตายของไก่กระทง

1. แผนการทดลอง

ใช้แผนการทดลองแบบบล็อคสมบูรณ์ (Randomized Complete Blocks Design; RCBD) โดยใช้ลูกไก่กระทงคละเพศแรกเกิดจำนวน 720 ตัว แบ่งออกเป็นสองกลุ่มการทดลอง โดยทดลองที่ระยะเวลาแตกต่างกัน แต่ละระยะเวลาใช้ลูกไก่กระทงแรกเกิดจำนวน 360 ตัว แบ่งการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม แต่ละกลุ่มประกอบไปด้วย 6 ซ้ำ ซ้ำละ 15 ตัว ไก่กระทงในแต่ละกลุ่มจะได้รับอาหารที่มีองค์ประกอบทางโภชนะตามความต้องการดังแสดงในตารางที่ 1 , 2 และ 3 ให้ไก่กระทงกินอาหารได้อย่างเต็มที่ และให้น้ำสะอาดตลอดเวลา โดยใส่ภาชนะบรรจุน้ำวางไว้ภายในคอกสัตว์ทดลองและล้างทำความสะอาดภาชนะบรรจุน้ำทุกวัน

2. การบันทึกข้อมูลและการคำนวณ

2.1 บันทึกน้ำหนักไก่กระทงเมื่อเริ่มการทดลองโดยชั่งน้ำหนักรวมกันทั้งซ้ำ

2.2 บันทึกข้อมูลตั้งแต่ไก่แรกเกิดจนถึงอายุ 42 วัน บันทึกปริมาณอาหารที่ให้และที่เหลือน้ำหนักไก่ที่ตาย สูตรการคำนวณมีดังนี้

$$\text{น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อตัว} = \frac{\text{น้ำหนักตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง - น้ำหนักตัวเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}}{\text{จำนวนไก่ทั้งหมด}}$$

$$\text{ปริมาณอาหารที่กินต่อตัว} = \frac{\text{ปริมาณอาหารที่ให้ - ปริมาณอาหารที่เหลือ}}{\text{จำนวนไก่ทั้งหมด}}$$

$$\text{ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่กิน}}{\text{น้ำหนักตัวที่เพิ่ม}}$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเลี้ยงรอด} = \frac{\text{จำนวนไก่เมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}{\text{จำนวนไก่เมื่อเริ่มต้นการทดลอง}} \times 100$$

3. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้ไปทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยวิธีการ Analysis of Variance และทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

4. สถานที่ทำการทดลอง

4.1 โรงเรือนเลี้ยงสัตว์ทดลอง ศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตสัตว์ปีก สถาบันสุวรรณวาจกกสิกิจเพื่อการค้นคว้าและพัฒนาปศุสัตว์และผลิตภัณฑ์สัตว์

4.2 ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนาการ ศูนย์ค้นคว้าและพัฒนาวิชาการอาหารสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

4.3 ห้องปฏิบัติการอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

5. ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มการทดลอง : 17 กรกฎาคม 2549
สิ้นสุดการทดลอง : 5 พฤศจิกายน 2549

การทดลองที่ 3 การศึกษาหาองค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ธรรมชาติที่มีในใบมันสำปะหลัง

ศึกษาหาองค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ธรรมชาติที่มีในใบมันสำปะหลังโดยการสกัดใบมันสำปะหลังด้วยเทคนิค Solvent extraction ใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ แยกสารสกัดให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิค Thin layer chromatography (TLC) และ Column chromatography ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้แยกสารออกจากสารผสม โดยอาศัยหลักให้สารนั้นกระจายอยู่ระหว่างเฟสสองเฟสคือ เฟสอยู่กับที่ (Stationary phase) และเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) โดยเฟสเคลื่อนที่จะพาให้สารที่สนใจเคลื่อนที่ไปด้วยอัตราที่ไม่เท่ากัน และการพิสูจน์เอกลักษณ์โดยใช้เทคนิคทาง Spectroscopy เป็นการตรวจสอบพลังงานที่เปลี่ยนไปเกี่ยวกับนิวเคลียส อะตอม ไอออนหรือโมเลกุล ในธรรมชาติจะพบเสมอว่าสสารสามารถดูดกลืน (Absorb) รังสีหรือแสงได้แตกต่างกัน เทคนิคนี้อาศัยหลักการการเกิดอันตรกิริยาระหว่างสสารและการแผ่รังสีแม่เหล็กไฟฟ้า ทำให้ทราบถึงโครงสร้างของสารได้ (จงรักษ์, 2547)

1. การเตรียมตัวอย่างใบมันสำปะหลัง

นำใบมันสำปะหลังสดพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 จากอำเภอเลาขวัญ จังหวัดกาญจนบุรี ตากแดดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อแห้งแล้วไปอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำใบมันสำปะหลังที่ผ่านการอบแห้งแล้ว บดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด (blender) และเก็บใส่ถุงพลาสติกไว้ในโถดูดความชื้น (desicator)

2. การศึกษาวิธีการสกัดสารออกฤทธิ์ธรรมชาติจากใบมันสำปะหลัง

นำตัวอย่างใบมันสำปะหลังแห้งที่เตรียมไว้อบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ชั่งตัวอย่างใบมันสำปะหลังแห้ง 5 กรัม แช่ในตัวทำละลาย 25 มิลลิลิตร (อัตราส่วนใบมันสำปะหลังแห้ง ต่อ ตัวทำละลาย เท่ากับ 1 ต่อ 5) ดังตารางที่ 8 เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 3 วัน (Maisuthisakul *et al.*, 2005) หลังจากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง นำของเหลวที่กรองได้ปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เก็บของเหลวส่วนบนไประเหยตัวละลายออกด้วยเครื่องกลั่นสุญญากาศแบบลดความดัน (rotary evaporator) จนได้ของเหลวหนืดบันทึกน้ำหนัก จากนั้นเติมตัวทำละลายปริมาตร 10 มิลลิลิตร เพื่อชะสารสกัดที่ติดอยู่ภายในขวด

ใส่ลงในขวดไวอัล ได้เป็นสารสกัดหยาบ ปิดฝาขวดและห่อกระดาษฟอยด์เพื่อป้องกันแสง ถ้าต้องเก็บสารสกัดให้เก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 8 ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารกสัดหยาบจากใบมันสำปะหลังแห้ง

การทดลองที่	ตัวทำละลาย
3.1	เอทธานอล 95 % [1/]
3.2	เมทธานอล 80 % [2/]
3.3	อะซิโตน [3/]
3.4	เฮกเซน : อะซิโตน : เมทธานอล (8:1:1 โดยปริมาตร) [4/]

ที่มา: [1/] Maisuthisakul *et al.* (2005)

[2/] Turkmen *et al.* (2005)

[3/] Hornero-Mendez and Minguez-Mosquera (2001)

[4/] A.O.A.C. (1997)

นำสารสกัดหยาบที่ได้มาทดสอบความสามารถของตัวทำละลายที่ใช้ในการแยกสาร โดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ดังตารางที่ 9 เพื่อคัดเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดละเอียด หลังจากนั้นเมื่อได้ตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้ว ทำการสกัดละเอียดโดยวิธี Column chromatography โดยใช้ซิลิกาเจล 60 เป็นเฟสอยู่กับที่ (Stationary phase) และใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมที่ได้จากการทดสอบด้วย TLC เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) เก็บสารที่ได้ในแต่ละลำดับชั้นใส่ขวด ปิดฝาและห่อด้วยกระดาษฟอยด์เพื่อทดสอบในขั้นต่อไป ถ้าต้องการเก็บสารสกัดให้เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 9 การทดสอบความสามารถของตัวทำละลายด้วยวิธี Thin layer chromatography (TLC)

สารสกัดหยาบ	ตัวทำละลาย	อัตราส่วน (โดยปริมาตร)
3.1	เอทธิลอะซิเตต: เมทธานอล [1/]	1:1, 1:3, 3:1 และ 9:1
	เอทธิลอะซิเตต : ปิโตรเลียมอีเทอร์ [1/]	3:1 และ 7:1
	เอทธิลอะซิเตต : เฮกเซน [1/]	1:1
	เฮกเซน : คลอโรฟอร์ม [1/]	4:1
3.2	เอทธิลอะซิเตต: เมทธานอล [1/]	1:1 และ 1:3
	เอทธิลอะซิเตต : ปิโตรเลียมอีเทอร์ [1/]	3:1 และ 7:1
	เอทธิลอะซิเตต : เฮกเซน [1/]	1:1
	เฮกเซน : คลอโรฟอร์ม [1/]	4:1
3.3	เฮกเซน : อะซิโตน [2/]	5:5, 6:4, 7:3, 8:2 และ 9:1
3.4	เฮกเซน : อะซิโตน : เมทธานอล [3/]	8:1:1

ที่มา: [1/] Cakir *et al.* (2003)

[2/] Juniata (2006)

[3/] A.O.A.C (1997)

3. การวิเคราะห์สารสกัดละเอียดจากใบมันสำปะหลัง

3.1 การวิเคราะห์สารสกัดละเอียดด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปี (Spectroscopy)

3.1.1 UV-VIS spectrophotometr

นำสารสกัดละเอียดในแต่ละลำดับชั้นที่ได้จาก Column chromatography ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั้นสุญญากาศแบบลดความดัน จนได้เป็นของเหลวหนืด เติมตัวทำละลายแต่ละชนิดคือ การทดลองที่3.1เติมเอทธานอล 95 % การทดลองที่3.2 เติมเมทธานอล 80 % การทดลองที่ 3.3 เติมอะซิโตน และการทดลองที่ 3.4 เติมเฮกเซน : อะซิโตน : เมทธานอล (8:1:1) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UV-VIS spectrophotometer ความยาวคลื่น 200-700 นาโนเมตร ใช้ตัวทำละลายแต่ละชนิดของแต่ละการทดลอง ดังตารางที่ 8 เป็นสารเปรียบเทียบ (blank)

3.1.2 Infrared spectrophotometer (IR)

นำสารสกัดละเอียดในแต่ละลำดับชั้นที่ได้จาก Column chromatography ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั้นสุญญากาศแบบลดความดัน จนได้เป็นของเหลวหนืด เติมตัวทำละลายแต่ละชนิดคือ การทดลองที่ 3.1 เติมเอทธานอล 95 % การทดลองที่3.2 เติมเมทธานอล 80 % การทดลองที่ 3.3 เติมอะซิโตน และการทดลองที่ 3.4 เติมเฮกเซน : อะซิโตน : เมทธานอล (8:1:1) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ป้ายสารลงบนแผ่นโซเดียมคลอไรด์ นำเข้าเครื่อง IR-spectrophotometer

3.2 การตรวจสอบกลุ่มสารธรรมชาติเบื้องต้นของสารสกัดอย่างละเอียดจากใบมันสำปะหลังด้วย phytochemical method (สุพจน์, 2548)

3.2.1 การตรวจสอบสารอัลคาลอยด์ด้วยการตกตะกอนอัลคาลอยด์

นำสารสกัดอย่างละเอียดในแต่ละลำดับชั้นมาระเหยบนเครื่องอังน้ำ (water bath) จนได้สารเหนียวข้น เติมกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 2 โมลาร์ คนและอุ่นประมาณ 10 นาที เพื่อให้สารอัลคาลอยด์ละลายในกรดจนหมด ทิ้งให้เย็นแล้วกรอง แบ่งเป็น 5 หลอดเท่าๆ กัน นำไปตรวจสอบด้วย Mayer's, Wagner's, Dragendoff และ Kedde's reagent เปรียบเทียบกับหลอดควบคุม สังเกตการตกตะกอน

3.2.2 การตรวจสอบสารซาโปนินโดยทำให้เกิดฟอง

นำสารสกัดอย่างละเอียดในแต่ละลำดับชั้น 1 มิลลิลิตร เติมน้ำแล้วเขย่าอย่างแรงเป็นเวลา 1 นาที สังเกตฟองที่เกิดขึ้นรูปรวงผึ้ง ถ้าฟองอยู่นาน 30 นาที แสดงว่ามีสารซาโปนิน

3.2.3 การตรวจสอบสารฟลาโวนอยด์ด้วย cyanidin test

นำสารสกัดอย่างละเอียดในแต่ละลำดับชั้น หยดเอทธิลแอลกอฮอล์เล็กน้อย ใส่ลวดแมกนีเซียมแล้วหยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 3-6 หยด ถ้าผลของปฏิกิริยาให้สีแดง-ส้ม แสดงว่ามี flavone สีแดง-แดงเลือดนก แสดงว่ามี flavonol และสีแดง-แดงม่วง แสดงว่ามี flavanone

3.2.4 การตรวจสอบสารแทนนิน

ก. การทำปฏิกิริยากับ ferric chloride

นำสารสกัดอย่างละเอียดในแต่ละลำดับชั้นใส่หลอดทดลอง หยด ferric chloride สังเกตสีที่เกิดขึ้น ถ้ามีสีน้ำเงิน-ดำ-เขียว แสดงว่ามีแทนนิน

ข. ความสามารถในการตกตะกอนโปรตีน

นำสารสกัดในแต่ละลำดับชั้นใส่หลอดทดลอง หยด 10 % เจลาติน สังเกตการตกตะกอนของเจลาติน ถ้ามีตะกอนแสดงว่ามีแทนนิน

4. สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาเคมี สายวิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

5. ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มการทดลอง : เดือนมกราคม 2550
สิ้นสุดการทดลอง : เดือนพฤษภาคม 2550

ผลและวิจารณ์

การทดลองที่ 1 การศึกษาผลการใช้ใบมันสำปะหลังแห้งต่อการตอบสนองของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันในไก่กระทง ทั้งระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจงและไม่จำเพาะเจาะจง ระดับกลูตาไธโอนและแอนติออกซิแดนซ์รวม

1. การศึกษาการทำงานของเซลล์แมคโครฟาจ (macrophage)

จากการศึกษาการทำงานของเซลล์แมคโครฟาจจากของเหลวในช่องท้องไก่กระทง พบว่าไก่กระทงกลุ่มที่กินอาหารที่มีใบมันสำปะหลังในสูตรอาหาร มีจำนวนเซลล์แมคโครฟาจที่จับกินเม็ดเลือดแดงแกะชนิด opsonized sheep red blood cell (opsonized SRBC) และ unopsonized sheep red blood cell (unopsonized SRBC) มากกว่าไก่กระทงที่กินอาหารที่ไม่มีระดับใบมันสำปะหลังในสูตรอาหาร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 การทำงานของเซลล์แมคโครฟาจในการจับกินเม็ดเลือดแดงแกะ (จำนวนเซลล์แมคโครฟาจที่จับกินเม็ดเลือดแดงแกะ/100 ตัว)

กลุ่มทดลอง (ใบมันสำปะหลัง;%)	Opsonization SRBC		Unopsonization SRBC	
	จำนวนที่กิน SRBC	จำนวนที่ไม่กิน SRBC	จำนวนที่กิน SRBC	จำนวนที่ไม่กิน SRBC
0	$72.83^{ก}\pm2.03$	$27.17^{ก}\pm2.03$	$29.88^{ข}\pm4.70$	$70.13^{ก}\pm4.70$
3	$77.38^{ขค}\pm3.30$	$22.63^{กข}\pm3.30$	$40.52^{กข}\pm4.17$	$59.48^{กข}\pm4.17$
5	$88.25^{ก}\pm3.27$	$11.75^{ก}\pm3.27$	$48.79^{ก}\pm4.80$	$51.21^{ข}\pm4.80$
7	$83.88^{กข}\pm4.07$	$16.13^{ขค}\pm4.07$	$44.92^{ก}\pm5.42$	$55.08^{ข}\pm5.42$

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± standard error)

^{ก,ข,ค} อักษรแตกต่างกันที่อยู่บนค่าเฉลี่ยในแถวตั้งเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

เมื่อพิจารณาจำนวนเม็ดเลือดแดงแกะที่ถูกกินต่อ 1 เซลล์แมคโครฟาจในกรณี opsonized SRBC พบว่าจำนวนเม็ดเลือดแดงแกะที่ถูกกิน 1-3 และ 4-6 เซลล์ มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ในส่วนไก่กระทงกลุ่มที่กินอาหารที่มีระดับใบมันสำปะหลัง 5% ในสูตรอาหาร มีจำนวนเม็ดเลือดแดงแกะที่ถูกกิน 7-9 และ >10 เซลล์ มากกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (ตารางที่ 11) และในกรณี unopsonized SRBC พบว่าไก่กระทงกลุ่มที่กินอาหารที่มีใบมันสำปะหลังมีจำนวนเม็ดเลือดแดงแกะที่ถูกกิน 1-3 เซลล์ มากกว่ากลุ่มที่ไม่มีใบมันสำปะหลังอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) และจำนวนเม็ดเลือดแดงแกะที่ถูกกิน 7-9 เซลล์ มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ไก่กระทงกลุ่มที่กินใบมันสำปะหลังในสูตรอาหารมีจำนวนเม็ดเลือดแดงแกะที่ถูกกิน 4-6 เซลล์ มากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้กินอาหารที่มีใบมันสำปะหลังอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 11 การทำงานของเซลล์แมคโครฟาจในการจับกินเม็ดเลือดแดงแกะชนิด opsonized (จำนวนเม็ดเลือดแดงแกะที่ถูกกิน/ 1 เซลล์แมคโครฟาจ)

กลุ่มทดลอง (ใบมันสำปะหลัง;%)	0	1-3	4-6	7-9	>10
0	$27.17^{ก}$±2.03	20.13±2.63	23.42±2.43	$18.19^{ข}$±2.76	$11.10^{ค}$±2.09
3	$22.63^{กข}$±3.30	20.79±2.71	21.38±2.04	$20.19^{ข}$±2.31	$15.02^{ขค}$±1.88
5	$11.75^{ค}$±3.27	14.60±2.15	19.67±2.42	$29.25^{ก}$±2.97	$24.73^{ก}$±3.37
7	$16.13^{ขค}$±4.07	17.19±2.67	22.52±2.68	$22.46^{กข}$±2.90	$21.71^{กข}$±2.53

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± standard error)

^{ก,ข,ค} อักษรแตกต่างกันที่อยู่บนค่าเฉลี่ยในแถวตั้งเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางที่ 12 การทำงานของเซลล์แมคโครฟาจในการจับกินเม็ดเลือดแดงแกะชนิด unopsonized (จำนวนเม็ดเลือดแดงแกะที่ถูกกิน/ 1 เซลล์แมคโครฟาจ)

กลุ่มทดลอง (ใบมันสำปะหลัง;%)	0	1-3	4-6	7-9	>10
0	70.13^{ก}±4.70	19.81±3.14	8.25^{ข}±2.88	1.81±0.80	0
3	59.48^{กข}±4.17	26.98±3.99	11.58^{กข}±2.47	1.96±0.59	0
5	51.21^{ข}±4.80	29.98±4.14	17.83^{ก}±3.44	0.98±0.25	0
7	55.08^{ข}±5.42	22.63±3.31	20.02^{ก}±3.14	2.27±0.62	0

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± standard error)
^{ก,ข} อักษรแตกต่างกันที่อยู่บนค่าเฉลี่ยในแถวตั้งเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

จากผลการศึกษาการในครั้งนี้ พบว่าไก่กระทงกลุ่มที่กินอาหารสูตรที่มีใบมันสำปะหลังมีจำนวนของเซลล์แมคโครฟาจที่จับกินเม็ดเลือดแดงแกะมากกว่ากลุ่มที่กินอาหารที่ไม่มีใบมันสำปะหลังในสูตรอาหาร อาจเนื่องมาจากปริมาณกลูตาไธโอนและสารออกฤทธิ์ธรรมชาติที่อยู่ในกลุ่มของสารแอนติออกซิแดนซ์ที่มีอยู่ในใบมันสำปะหลัง เช่น กลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกและแคโรทีนอยด์ เป็นต้น ช่วยกระตุ้นการ phagocytosis ของเซลล์แมคโครฟาจ ซึ่งสอดคล้องกับ Konjufca *et al.* (2004) ที่รายงานว่า ไก่กระทงอายุ 3 สัปดาห์ ที่กินอาหารเสริมไวตามินอีซึ่งเป็นสารแอนติออกซิแดนซ์ในระดับต่างกัน พบว่ามีจำนวนเซลล์แมคโครฟาจที่ phagocytosis มากกว่าและมีจำนวนเม็ดเลือดแดงแกะที่ถูกจับกินต่อ 1 เซลล์แมคโครฟาจ ชนิด opsonized SRBC มากกว่า unopsonized SRBC นอกจากนี้ Robinson *et al.* (1993) ที่ได้ทำการทดลอง พบว่าหนูที่มีปริมาณกลูตาไธโอนลดลงจะส่งผลทำให้มีเซลล์แมคโครฟาจลดลงด้วย

การทำงานของเซลล์แมคโครฟาจชนิด unopsonized บ่งบอกถึงการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเจาะจง และการทำงานของเซลล์แมคโครฟาจชนิด opsonized บ่งบอกถึงการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจง คือเมื่อมีสิ่งแปลกปลอมเข้าสู่ร่างกาย จะถูกจับกินโดยแมคโครฟาจแบบไม่จำเพาะเจาะจงก่อน แมคโครฟาจ (Antigen presenting cell; APC) จะจับกินและขนส่งชิ้นส่วนของสิ่งแปลกปลอมมาที่ผิวเซลล์เพื่อส่งต่อให้ helper T lymphocyte (Th-cell) จากนั้น Th-cell จะถูกกระตุ้นและกลายเป็น activated Th-cell ผลิตสาร Interleukin 2

(IL-2) ออกมา ซึ่งจะกระตุ้นให้ T lymphocyte แบ่งตัวเพิ่มจำนวนและกระตุ้น cytotoxic T lymphocyte (Tc-cell) ให้ทำลายสิ่งแปลกปลอม (สุทธิพันธ์, 2541)

2. การศึกษาการทำงานของแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงแกะ

จากการศึกษาการทำงานของแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงแกะจากซีรั่มของไก่กระทง พบว่าระดับแอนติบอดีของไก่กระทงกลุ่มที่ไม่ได้กินและกลุ่มที่กินอาหารสูตรที่มีใบมันสำปะหลังในทุกระดับ มีระดับของแอนติบอดีแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ในวันที่ 0, 7, 14 และ 21 ภายหลังการฉีดกระตุ้นด้วย 7% SRBC ครั้งที่ 2 โดยพบว่าในวันที่ 7 ภายหลังการฉีดกระตุ้นด้วย 7% SRBC ครั้งที่ 2 ไก่กระทงมีระดับของแอนติบอดีเพิ่มขึ้นสูงที่สุด และในวันที่ 14 และ 21 มีแนวโน้มลดลง (ตารางที่ 13) โดยระดับแอนติบอดีในวันที่ 0 นั้นอาจเป็นผลเนื่องมาจากแอนติบอดีชนิด IgM ซึ่งเป็นแอนติบอดีชนิดแรกที่ถูกสร้างขึ้นเมื่อได้รับแอนติเจนเป็นครั้งแรก และในวันที่ 7 มีปริมาณแอนติบอดีสูงขึ้นอาจเป็นผลเนื่องมาจากแอนติบอดีชนิด IgG ซึ่งเป็นแอนติบอดีชนิดที่มีปริมาณมากที่สุดในซีรั่ม ถูกสร้างมากที่สุดเมื่อได้รับแอนติเจนเป็นครั้งที่ 2 (ทัศนีย์, 2541; Tizard, 2004)

ตารางที่ 13 ระดับแอนติบอดีของไก่กระทงที่อายุ 0, 7, 14 และ 21 วัน หลังจากฉีดกระตุ้นด้วยเม็ดเลือดแดงแกะ

กลุ่มทดลอง (ใบมันสำปะหลัง;%)	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21
0	7.00±0.25	7.50±0.23	5.50±0.19	4.42±0.15
3	7.08±0.36	7.83±0.17	6.08±0.31	4.75±0.41
5	7.83±0.24	7.83±0.27	5.58±0.26	4.75±0.30
7	7.58±0.23	8.08±0.36	6.17±0.30	4.50±0.26

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± standard error)

3. การศึกษาการทำงานของเซลล์ลิมโฟซัยท์ ชนิดที (T-lymphocyte)

จากผลการศึกษาการทำงานของเซลล์ลิมโฟซัยท์ ชนิดที ที่ตอบสนองต่อ concanavalin A พบว่า ในวันที่ 0 และ 3 ภายหลังการฉีดกระตุ้นด้วย 7% SRBC ไก่กระทงกลุ่มที่กินอาหารที่มีระดับใบมันสำปะหลัง 5 % ในสูตรอาหาร มีการเจริญของเซลล์ลิมโฟซัยท์ ชนิดที มากกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และในวันที่ 7 ภายหลังการฉีดกระตุ้นด้วย 7% SRBC ไก่กระทงกลุ่มที่กินอาหารที่มีใบมันสำปะหลัง 5 และ 7% ในสูตรอาหาร มีการเจริญของเซลล์ลิมโฟซัยท์มากกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางที่ 14)

ตารางที่ 14 การเจริญของเซลล์ลิมโฟซัยท์ชนิดที ในเลือดของไก่กระทงที่ตอบสนองต่อการให้ concanavalin A ในวันที่ 0, 3 และ 7 หลังจากฉีดกระตุ้นด้วยเม็ดเลือดแดงแกะ

กลุ่มทดลอง (ใบมันสำปะหลัง;%)	วันที่ 0	วันที่ 3	วันที่ 7
0	$0.268^{ก}$±0.002	$0.443^{ก}$±0.001	$0.446^{ก}$±0.001
3	$0.270^{ก}$±0.002	$0.447^{ขค}$±0.002	$0.458^{ข}$±0.002
5	$0.289^{ก}$±0.002	$0.467^{ก}$±0.002	$0.471^{ก}$±0.002
7	$0.279^{ข}$±0.002	$0.452^{ข}$±0.003	$0.475^{ก}$±0.002

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± standard error)
^{ก,ข,ค} อักษรแตกต่างกันที่อยู่บนค่าเฉลี่ยในแถวตั้งเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

จากผลการศึกษาการในครั้งนี้ พบว่าไก่กระทงกลุ่มที่กินอาหารที่มีใบมันสำปะหลังในสูตรอาหารมีการเจริญของลิมโฟซัยท์ ชนิดที เพิ่มขึ้น อาจเนื่องมาจากระดับ GSH ที่เพิ่มมากขึ้นเช่นกัน โดย Dröge and Breitkreutz (2000) กล่าวว่า GSH ที่เพิ่มขึ้นสามารถกระตุ้นการทำงานของ $CD4^+$, $CD8^+$ และ Interleukin 12 (IL-12) receptor β-chain (Dröge *et al.*, 1994)

4. การศึกษาปริมาณกลูตาไธโอนในเม็ดเลือดแดง (glutathione; GSH)

จากการศึกษาปริมาณ GSH ในเม็ดเลือดแดงพบว่า ไก่ที่กินอาหารที่มีระดับใบมันสำปะหลัง 0 และ 3% ในสูตรอาหาร มีปริมาณ GSH ในเลือดต่ำกว่าไก่ที่ได้รับอาหารสูตรที่มีระดับใบมันสำปะหลัง 5 และ 7% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ทั้งในช่วงอายุ 21, 28 และ 35 วัน (ตารางที่ 15) ผลจากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าปริมาณ GSH ในเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้นตามระดับของใบมันสำปะหลังในสูตรอาหารและปริมาณการกินอาหารโดยปริมาณ GSH ในเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้นสูงที่สุดในไก่ที่กินอาหารที่มีใบมันสำปะหลังที่ระดับ 5% ในสูตรอาหาร

ตารางที่ 15 ปริมาณกลูตาไธโอนในเม็ดเลือดแดงของไก่กระทงอายุ 21, 28 และ 35 วัน (μM)

กลุ่มทดลอง (ใบมันสำปะหลัง;%)	21 วัน	28 วัน	35 วัน
0	$436.60^{ข}$±9.28	$770.43^{ข}$±8.06	$606.41^{ข}$±13.18
3	$456.82^{ข}$±9.84	$789.96^{ข}$±5.75	$626.13^{ข}$±9.32
5	$546.03^{ก}$±10.59	$826.22^{ก}$±10.54	$692.86^{ก}$±9.39
7	$544.42^{ก}$±9.16	$814.61^{ก}$±6.73	$686.50^{ก}$±5.79

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± standard error)
^{ก,ข} อักษรแตกต่างกันที่อยู่บนค่าเฉลี่ยในแถวตั้งเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ปริมาณ GSH ในเม็ดเลือดแดงที่เพิ่มขึ้นตามระดับใบมันสำปะหลังและปริมาณการกินอาจเนื่องมาจากสัตว์ได้รับ HCN ที่เหลืออยู่ในปริมาณเล็กน้อยในใบมันสำปะหลังแห้ง ซึ่ง HCN นี้เมื่อเข้าไปในร่างกาย จะทำปฏิกิริยากับไธโอซัลเฟตถูกเปลี่ยนไปเป็นไธโอไซยาเนต (thiocyanate) เพื่อลดความเป็นพิษของ HCN แต่ในขณะเดียวกันก็เป็นสารที่ช่วยกำจัดอนุมูลอิสระต่างๆ โดยไธโอไซยาเนตจะกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้เปลี่ยนเป็นน้ำและสารไฮโปไธโอไซยาเนต ในขณะเดียวกันร่างกายจะกระตุ้นการสังเคราะห์กลูตาไธโอนเพิ่มขึ้นเพื่อช่วยเปลี่ยนสารไฮโปไธโอไซยาเนตกลับไปเป็น substrate เพื่อยับยั้งไม่ให้ทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์อีกครั้ง ซึ่งจะทำให้เกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องและเกิดอนุมูลอิสระขึ้นอีก (Murry *et al.*, 1996; Mary *et al.*, 2001)

นอกจากการต้านอนุมูลอิสระแล้ว GSH ยังทำหน้าที่กำจัดสารพิษ (detoxification) โดย GSH ช่วยสร้างเอนไซม์ต่างๆ คือ glutathione peroxidsae (GPX), glutathione reductase (GR) และ glutathione S-transferase (GST) ซึ่ง GPX และ GR ทำงานในระบบการต้านอนุมูลอิสระ ส่วน GST ช่วยในการกำจัดสารพิษโดยเปลี่ยนสารพิษที่ไม่ละลายน้ำ เช่น โลหะหนัก ยาฆ่าแมลง ให้ละลายในน้ำได้ดีขึ้นและขับออกจากร่างกาย (มโนวิช, 2549)

อรอนงค์ (2549) ศึกษาการใช้อาหารแหล่งพลังงาน 2 ชนิดคือ ข้าวโพดและมันสำปะหลังเป็นอาหารสุกรเพศผู้ตอน ผลการทดลองพบว่า สุกรที่กินข้าวโพดเป็นแหล่งพลังงานมีปริมาณ GSH ในเม็ดเลือดแดงต่ำกว่าสุกรที่กินมันสำปะหลังเป็นแหล่งพลังงานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) สอดคล้องกับ สรัสนันท์ (2549) ได้ศึกษาถึงการใช้อาหารแหล่งพลังงาน 2 ชนิด คือ ข้าวโพดและมันสำปะหลังเป็นอาหารไก่กระทง พบว่าไก่กระทงอายุ 21 วัน ที่กินอาหารที่ใช้มันสำปะหลังเป็นแหล่งพลังงานมีปริมาณ GSH ในเม็ดเลือดแดงสูงกว่าไก่กระทงที่กินอาหารที่ใช้ข้าวโพดเป็นแหล่งพลังงานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และไก่กระทงอายุ 35 วัน ที่กินอาหารที่ใช้มันสำปะหลังเป็นแหล่งพลังงานมีปริมาณ GSH สูงกว่าอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) อาจเนื่องจากเมื่อร่างกายได้รับไซยาไนด์ ร่างกายจะเปลี่ยนให้เป็นไธโอไซยาเนท ซึ่งจะมีผลต่อระบบ peroxidase ในร่างกายเพื่อกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ให้เปลี่ยนเป็นสารไฮโปไธโอไซยาเนท ในขบวนการต้านอนุมูลอิสระ ในขั้นตอนนี้ร่างกายจะกระตุ้นการสังเคราะห์กลูตาไธโอนที่ตับเพิ่มมากขึ้นเพื่อช่วยเปลี่ยนสารไฮโปไธโอไซยาเนทกลับไปเป็น substrate ในระบบ peroxidase ต่อไป

วิภาสิริ และคณะ (2548) ได้ทำการศึกษาการใช้ใบมันสำปะหลังทดแทนใบกระถินในอาหารไก่ไข่ที่เลี้ยงในโรงเรือนเปิดและกำลังมีการระบาดของโรคไข้หวัดนก และพบว่า ไก่ไข่ที่กินสูตรอาหารใบมันสำปะหลังมีเปอร์เซ็นต์การไข่ดีกว่า ($P<0.05$) และมีอัตราการตายต่ำกว่าไก่ไข่ที่กินสูตรอาหารเสริมใบกระถิน ทั้งนี้อาจเนื่องจากผลของระดับกลูตาไธโอนในกระแสเลือดที่เพิ่มขึ้นนั่นเอง แต่ในการศึกษาครั้งนี้การเพิ่มขึ้นของระดับกลูตาไธโอนในกระแสเลือดไก่ที่กินอาหารเสริมใบมันสำปะหลังมิได้ช่วยทำให้อัตรารอดชีวิตของไก่เพิ่มขึ้นมาก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากไก่ที่ทำการศึกษามิได้รับการกระตุ้นเพื่อให้เกิดอนุมูลอิสระ จึงทำให้กิจกรรมของสารต่อต้านอนุมูลอิสระแสดงออกไม่เด่นชัด

5. การศึกษาปริมาณแอนติออกซิแดนซ์รวม (total antioxidant capacity; TAC)

จากการศึกษาปริมาณแอนติออกซิแดนซ์รวม (total antioxidant capacity; TAC) โดยใช้ความสามารถของสารแอนติออกซิแดนซ์ในพลาสม่า รีดิวซ์ Fe^{3+}-TPTZ (ferric- tripyridyltriazine) เป็น Fe^{2+}-TPTZ (ferrous- tripyridyltriazine) พบว่า ไก่กระทงอายุ 21 วัน กลุ่มที่กินอาหารที่มีใบมันสำปะหลังในสูตรอาหาร มีค่า TAC สูงกว่ากลุ่มอื่นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และในส่วนของไก่กระทงอายุ 28 และ 35 วัน กลุ่มที่กินอาหารที่มีใบมันสำปะหลังมีค่า TAC สูงกว่ากลุ่มที่กินอาหารที่ไม่มีใบมันสำปะหลังอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางที่ 16)

จากผลการศึกษาการในครั้งนี้ พบว่า ไก่กระทงกลุ่มที่กินอาหารที่ใช้ใบมันสำปะหลังในสูตรอาหารมีค่า TAC สูงกว่ากลุ่มที่กินอาหารที่ไม่ได้ใช้ใบมันสำปะหลัง อาจเนื่องมาจากใบมันสำปะหลังมีสารออกฤทธิ์ธรรมชาติอยู่หลายชนิดที่มีคุณสมบัติเป็นสารแอนติออกซิแดนซ์ เช่น กลุ่มสารประกอบฟีนอลิก กลุ่มแคโรทีนอยด์ แซนโทฟิลล์ ฟลาโวนอยด์ ดังที่พบในการทดลองที่ 3 ซึ่งสารแอนติออกซิแดนซ์สามารถได้รับโดยตรงจากอาหาร โดยแคโรทีนอยด์จะถูกดูดซึมที่ลำไส้พร้อมกับอาหาร ส่งต่อไปที่กระแสเลือดและกระจายตัวไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ พบว่าระดับแคโรทีนอยด์ในกระแสเลือดมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก ซึ่งชนิดของแคโรทีนอยด์ที่พบมากคือเบต้าแคโรทีน แอลฟาแคโรทีน ลูทีน ซีแซนทิน และไลโคพีน มีค่าครึ่งชีวิตประมาณ 11-14 วัน นอกจากนี้ระดับ แคโรทีนอยด์ในเลือดแตกต่างกันไปตามพฤติกรรมการบริโภคและอัตราการเมแทบอลิซึม โดยร่างกายจะดูดซึมแคโรทีนอยด์จากอาหารที่ผ่านการปรุงให้สุกแล้วได้มากกว่าอาหารที่ยังไม่ปรุงให้สุก (วีระศักดิ์, 2549)

ตารางที่ 16 ปริมาณ total antioxidant capacity (TAC) ของไก่กระทงอายุ 21, 28 และ 35 วัน (μM)

กลุ่มทดลอง (ใบมันสำปะหลัง;%)	21 วัน	28 วัน	35 วัน
0	1548.83^{ฉ}±75.89	1261.88^{ข}±65.89	1121.54^{ข}±64.56
3	1725.29^{จฉ}±56.11	1633.33^{ก}±86.40	1351.75^{กข}±84.13
5	1805.63^{จ}±64.06	1639.58^{ก}±73.89	1472.79^{ก}±94.24
7	1698.96^{จฉ}±62.89	1552.17^{ก}±97.54	1431.46^{ก}±85.06

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± standard error)

^{ก,ข} อักษรแตกต่างกันที่อยู่บนค่าเฉลี่ยในแถวตั้งเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

^{จ,ฉ} อักษรแตกต่างกันที่อยู่บนค่าเฉลี่ยในแถวตั้งเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

จากผลการทดลองพบว่า ไก่ที่กินอาหารที่มีใบมันสำปะหลังในสูตรอาหารมีภูมิคุ้มกันทั้งแบบไม่จำเพาะเจาะจงและแบบจำเพาะเจาะจงเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเป็นผลมาจากปริมาณกลูตาไธโอนที่มีสำรองอยู่ในระดับสูงมีบทบาทสำคัญในกระบวนการต่อต้านอนุมูลอิสระภายในเซลล์ โดยกลูตาไธโอนเป็นตัวให้อิเล็กตรอนกับ H_2O_2 ด้วยการทำงานของเอนไซม์ GPX ได้ผลิตภัณฑ์คือ GSSG ซึ่งสามารถเปลี่ยนกลับไปเป็น GSH ได้ด้วยการทำงานของเอนไซม์ GR และปริมาณสารแอนติออกซิแดนซ์ที่เพิ่มขึ้น ซึ่งได้รับโดยตรงจากการกินอาหารช่วยในการกำจัดอนุมูลอิสระได้อีกทางหนึ่ง จึงส่งผลให้สารชีวโมเลกุลต่างๆ ในเซลล์ เช่น ดีเอ็นเอ โปรตีน ไขมันไม่อิ่มตัวที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ไม่ถูกทำลายให้เสียสภาพไป ส่งผลให้เซลล์ไม่เสื่อมสภาพเร็ว รวมถึงเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันด้วย ดังนั้นเมื่อสัตว์ลดความเครียดเนื่องจากอนุมูลอิสระลงได้ จึงส่งผลให้สัตว์มีสุขภาพดีขึ้น (Subrata *et al*., 1997)

การทดลองที่ 2 ผลของการใช้ใบมันสำปะหลังในระดับที่แตกต่างกันในสูตรอาหารต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่กระทง

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนะของอาหารไก่กระทงอายุ 0-19, 21-35 และ 36-42 วัน (ตารางที่ 17) พบว่ามีค่าใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการคำนวณ ยกเว้นปริมาณโปรตีนและเยื่อใยที่มีผลการวิเคราะห์มากกว่าค่าที่ได้จากการคำนวณเล็กน้อย ซึ่งอาจเนื่องมาจากความผันแปรของใบมันสำปะหลังที่นำมาใช้ในการทดลอง

ผลจากการศึกษาพบว่าไก่ที่กินอาหารที่มีใบมันสำปะหลังในระดับที่แตกต่างกัน ในช่วงอายุ 0-3, 3-6 และ 0-6 สัปดาห์ มีปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวัน น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อตัว ลดลงตามระดับของใบมันสำปะหลังที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (FCR) ด้อยลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในขณะที่เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังตารางที่ 4 แสดงให้เห็นว่าไก่กระทงมีสมรรถภาพการผลิตลดลงตามระดับของใบมันสำปะหลังที่เพิ่มขึ้นในทุกช่วงอายุ (ตารางที่ 18)

ผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าทั้งในช่วงอายุ 0-3, 3-6 และ 0-6 สัปดาห์ ไก่มีการกินอาหารเฉลี่ยต่อตัวต่อวันในปริมาณที่แตกต่างกันตามระดับของใบมันสำปะหลังที่เพิ่มขึ้นในสูตรอาหาร โดยไก่ที่กินอาหารสูตรที่มีใบมันสำปะหลัง 0 และ 3% ในปริมาณที่มากกว่าอาหารสูตรที่มีใบมันสำปะหลัง 5 และ 7% ตามลำดับ สอดคล้องกับการทดลองของ Eruvbetine *et al.* (2003) ที่ใช้ cassava concentrate (หัวมันสำปะหลัง : ใบมันสำปะหลัง = 50:50) ในอาหารไก่กระทงในระดับ 0, 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร ผลการทดลองพบว่า การเพิ่มระดับ cassava concentrate ส่งผลให้ไก่กระทงมีน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อตัวและปริมาณการกินอาหารมีแนวโน้มลดลง และประสิทธิภาพการใช้อาหารด้อยลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) การเพิ่มขึ้นของระดับใบมันสำปะหลังในสูตรอาหารส่งผลต่อปริมาณการกินอาหาร ที่ลดลงทั้งนี้เนื่องจากใบมันสำปะหลังมีระดับเยื่อใยสูงและมีลักษณะฟ่าม การเสริมใบมันสำปะหลังในระดับสูงขึ้นมีผลทำให้ระดับเยื่อใยในอาหารสูงมากขึ้นด้วย (ตารางที่ 1, 2 และ 3) โดยเยื่อใยนั้นจะมีการดูดน้ำในระหว่างที่อยู่ในทางเดินอาหารเข้าไปมาก ทำให้อาหารเคลื่อนที่เร็วการย่อยได้จึงต่ำลง อีกทั้งอาหารมีการพองตัวในทางเดินอาหาร ทำให้สัตว์รู้สึกอิ่มเร็ว และกินอาหารได้น้อยลง (อุทัย, 2529) ซึ่งปริมาณการกินอาหารที่ลดลงส่งผลต่อการเพิ่มน้ำหนักตัวและประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารที่ด้อยลงอย่าง

ตารางที่ 17 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนะของอาหารไก่กระทงอายุ 0-19, 20-35 และ 36-42 วัน

	อายุ 0-19 วัน				อายุ 20-35 วัน				อายุ 36-42 วัน			
	ปริมาณใบมันสำปะหลังแห้ง (%)				ปริมาณใบมันสำปะหลังแห้ง (%)				ปริมาณใบมันสำปะหลังแห้ง (%)			
	0	3	5	7	0	3	5	7	0	3	5	7
ความชื้น (%)	9.80	9.60	9.24	8.83	9.47	9.23	9.62	8.81	9.29	9.10	9.98	9.86
เถ้า (%)	7.34	7.21	7.26	6.74	6.55	6.84	6.53	6.83	6.47	6.66	7.01	7.02
โปรตีน (%)	24.91	24.98	25.82	25.67	20.05	20.89	21.71	22.77	18.64	19.71	19.75	19.66
ไขมัน (%)	7.27	7.69	7.93	8.05	6.21	6.96	7.83	7.83	6.11	7.11	7.21	7.62
พลังงานรวม (แคลอรี/กรัม)	4603.14	4655.99	4586.92	4649.68	4406.98	4441.92	4458.74	4548.85	4343.48	4341.48	4328.47	4441.65
เยื่อใย (%)	4.46	5.06	5.41	5.95	3.90	4.73	5.09	5.50	3.55	4.29	4.56	4.86
แคลเซียม (%)	1.43	1.33	1.37	1.41	1.39	1.36	1.23	1.51	1.40	1.45	1.46	1.39
ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (%)	0.77	0.76	0.77	0.65	0.72	0.72	0.69	0.67	0.67	0.64	0.63	0.65

ต่อเนื่องเมื่อมีการเพิ่มระดับใบมันสำปะหลังในสูตรอาหาร โดยเฉพาะไก่กระทงเป็นสัตว์ที่มีการเติบโตอย่างรวดเร็ว และต้องมีการกินอาหารในแต่ละวันในปริมาณมาก จึงมีความไวต่อความฟ่ามและระดับเยื่อใยในอาหารมาก การเสริมใบมันสำปะหลังแห้งในสูตรอาหารแม้ในระดับต่ำจึงส่งผลกระทบต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่กระทงอย่างเห็นได้ชัด

ตารางที่ 18 ค่าเฉลี่ยปริมาณอาหารที่กิน น้ำหนักตัวที่เพิ่ม ประสิทธิภาพการปลี่ยนอาหาร และเปอร์เซ็นต์การเลี้ยงรอดของไก่กระทงอายุ 0-6 สัปดาห์

ช่วงอายุ (สัปดาห์)	กลุ่มทดลอง (ใบมัน;%)	ปริมาณอาหารที่กิน (กรัม/ตัว/วัน)	น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ตัว)	ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร	การเลี้ยงรอด (%)
0-3	0	57.01^{ก}±0.34	867.09^{ก}±3.98	1.38^{ก}±0.005	99.44±0.55
	3	57.45^{ก}±0.25	859.00^{ก}±5.09	1.40^{ขค}±0.014	96.11±1.29
	5	55.49^{ข}±0.23	824.46^{ข}±3.98	1.42^{กข}±0.004	98.89±0.75
	7	51.98^{ค}±0.27	761.13^{ค}±5.36	1.44^{ก}±0.011	98.33±1.19
4-6	0	155.82^{ก}±0.26	1501.55^{ก}±2.63	2.18^{ข}±0.004	95.55±1.25
	3	156.15^{ก}±0.22	1454.81^{ข}±8.31	2.25^{ก}±0.014	98.81±0.80
	5	152.06^{ข}±0.57	1402.91^{ก}±8.19	2.28^{ก}±0.011	96.59±1.03
	7	149.58^{ค}±0.26	1377.89^{ง}±2.45	2.28^{ก}±0.002	98.33±0.87
0-6	0	106.41^{ก}±0.32	2368.64^{ก}±4.95	1.88^{ง}±0.003	95.00±1.19
	3	106.80^{ก}±0.33	2313.81^{ข}±11.93	1.94^{ค}±0.011	95.00±1.67
	5	103.78^{ข}±0.30	2227.37^{ค}±9.18	1.96^{ข}±0.006	95.00±1.45
	7	100.78^{ค}±0.30	2139.03^{ง}±6.91	1.98^{ก}±0.005	96.11±1.29

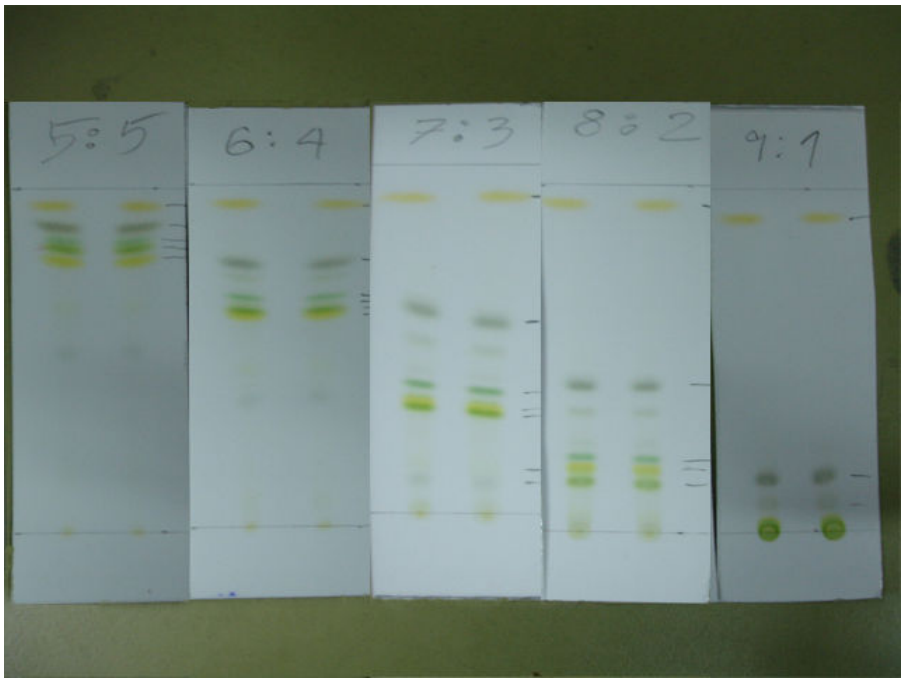
หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± standard error)

^{ก,ข,ค,ง} อักษรแตกต่างกันที่อยู่บนค่าเฉลี่ยในแถวตั้งเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

การทดลองที่ 3 การศึกษาหาองค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ธรรมชาติที่มีในใบมันสำปะหลัง

1. ผลการศึกษาการสกัดสารออกฤทธิ์ธรรมชาติจากใบมันสำปะหลัง

จากผลการทดสอบความสามารถของตัวทำละลายโดย TLC ดังตารางที่ 9 พบว่า ตัวทำละลายที่เหมาะสมในการใช้สกัดสารสกัดละเอียดในการทดลองที่ 3.1 และ 3.2 คือสารละลายผสมเอทธิลอะซิเตต : เฮกเซน ในอัตราส่วน 1: 1 (โดยปริมาตร) การทดลองที่ 3.3 คือสารละลายผสมเฮกเซน : อะซิโตน ในอัตราส่วน 7 :3 (โดยปริมาตร) และการทดลองที่ 3.4 คือสารละลายผสมเฮกเซน : อะซิโตน : เมทธานอล ในอัตราส่วน 8:1:1 (โดยปริมาตร) ในภาพที่ 6 แสดงตัวอย่างการทดสอบความสามารถของตัวทำละลายโดย TLC ของการทดลองที่ 3.3 แสดงให้เห็นว่าสารละลาย



A **B** **C** **D** **E**

ภาพที่ 6 การแยกชั้นและสีของสารสกัดหยาบจากการทดสอบความสามารถของตัวทำละลายโดยวิธี Thin layer chromatography (TLC) ของการทดลองที่ 3.3

หมายเหตุ A สารละลายผสมเฮกเซน : อะซิโตน ในอัตราส่วน 5 : 5 (โดยปริมาตร)

B สารละลายผสมเฮกเซน : อะซิโตน ในอัตราส่วน 6 : 4 (โดยปริมาตร)

C สารละลายผสมเฮกเซน : อะซิโตน ในอัตราส่วน 7 : 3 (โดยปริมาตร)

D สารละลายผสมเฮกเซน : อะซิโตน ในอัตราส่วน 8 : 2 (โดยปริมาตร)

E สารละลายผสมเฮกเซน : อะซิโตน ในอัตราส่วน 9 : 1 (โดยปริมาตร)

ผสมเฮกเซน : อะซิโตน ในภาพ E แยกสารได้น้อยที่สุด ส่วน A และ B สามารถแยกสารได้ แต่ใช้ระยะเวลามากกว่า C และ D และเมื่อพิจารณา C และ D พบว่าสามารถแยกสารได้แถบสีที่เหมือนกัน แต่ D ได้สารสกัดที่ผ่านคอลัมน์เร็วเกินไป ดังนั้น C จึงมีความเหมาะสมในการแยกสารสกัดหยาบได้ดีที่สุด

ผลการสกัดสารสกัดละเอียดโดยวิธี Column chromatography โดยใช้ซิลากาเจล เป็น stationary phase และใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมเป็น mobile phase พบว่าได้สารสกัดละเอียดที่มีหลายลำดับชั้นแตกต่างกันดังตารางที่ 19 (ภาพผนวกที่ 1-4)

ตารางที่ 19 ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารและลำดับชั้นของสารสกัดละเอียดโดยวิธี Column chromatography

การทดลองที่	ตัวทำละลาย		สีลำดับชั้นของสารสกัด (เรียงตามสีที่ออกมาจากคอลัมน์)
	สกัดหยาบ	สกัดละเอียด	
3.1	เอทธานอล 95%	เอทธิลอะซิเตต:เฮกเซน (1:1)	ใส(1), เหลือง(2), เขียวเข้ม(3), เขียว(4),เหลืองอมเขียว(5), เหลืองอ่อน(6)
3.2	เมทธานอล 80%	เอทธิลอะซิเตต:เฮกเซน(1:1)	เหลืองอ่อน(1), เทา(2), เหลืองเข้ม(3), เขียว(4), เหลืองอมเขียว(5)
3.3	อะซิโตน	เฮกเซน:อะซิโตน (7:3)	เหลืองส้ม(1), เขียวขี้ม้า(2), เขียวเข้ม(3), เขียว(4), เหลือง(5)
3.4	เฮกเซน:อะซิโตน: เมทธานอล (8:1:1)	เฮกเซน:อะซิโตน:เมทธานอล (8:1:1)	เหลือง(1), เหลืองเข้ม(2), เหลืองอมเขียว(3), เขียวอ่อน(4), เขียวเข้ม(5), เขียว(6)

2. ผลการวิเคราะห์สารสกัดละเอียดจากใบมันสำปะหลัง

2.1 ผลการวิเคราะห์สารสกัดละเอียดด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปี (spectroscopy)

จากผลการวิเคราะห์สารสกัดละเอียดจากใบมันสำปะหลังด้วย UV-VIS spectrophotometer โดยพบว่าจากการทดลองที่ 3.1 ที่สกัดหยาบด้วยเอทธานอล 95% และสกัดละเอียดด้วยเอทธิลอะซิเตต:เฮกเซน ในอัตราส่วน 1:1 (โดยปริมาตร) สารสกัดละเอียดลำดับชั้นที่ 6 มีพีคที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดอยู่ในช่วง 200-300 นาโนเมตร (ภาพผนวกที่ 5) ซึ่งเป็นช่วง

การดูดกลืนแสงสูงสุดของสารประกอบฟีนอลิก ส่วนสารสกัดละเอียดลำดับชั้นอื่นๆ พบว่า เป็นสารผสมระหว่างสารประกอบฟีนอลิก แคโรทีนอยด์และแซนโทฟิลล์ สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ด้วย IR พบ functional group ของ –OH, C-H และ COH (ภาพผนวกที่ 9) ซึ่งพบในโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก และจากการทดลองที่ 3.2 ที่ทำการสกัดหยาบด้วยเมทธานอล 80% และสกัดละเอียดด้วยเอทธิลอะซิเตต:เฮกเซน ในอัตราส่วน 1:1 (โดยปริมาตร) พบสารผสมระหว่างสารประกอบฟีนอลิก แคโรทีนอยด์และแซนโทฟิลล์ในสารสกัดละเอียดทุกลำดับชั้น (ภาพผนวกที่ 6) ซึ่งจากการวิเคราะห์ด้วย IR พบ functional group ของ –OH และ C-H เช่นเดียวกัน (ภาพผนวกที่ 10) ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าพบสารประกอบฟีนอลิกจากสารสกัดละเอียดลำดับชั้นที่ 6 ของการทดลองที่ 3.1 และพบสารผสมของสารประกอบฟีนอลิก แคโรทีนอยด์และแซนโทฟิลล์ จากสารสกัดละเอียดลำดับชั้นที่ 1-5 ของการทดลองที่ 3.1 และจากสารสกัดละเอียดทุกลำดับชั้นของการทดลองที่ 3.2 (ตารางที่ 20)

ผลการวิเคราะห์ด้วย UV-VIS spectrophotometer จากการทดลองที่ 3.3 ที่สกัดหยาบด้วยอะซิโตน และสกัดละเอียดด้วยเฮกเซน:อะซิโตน ในอัตราส่วน 7:3 (โดยปริมาตร) พบว่าสารสกัดละเอียดลำดับชั้นที่ 5 มีพีคที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดอยู่ในช่วง 400-500 นาโนเมตร (ภาพผนวกที่ 7) ซึ่งเป็นช่วงการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารแคโรทีนอยด์และแซนโทฟิลล์ และมีลักษณะของพีคใกล้เคียงกับพีคของแคโรทีนอยด์ที่สกัดด้วยเฮกเซน หรืออะซิโตน ที่รายงานไว้ใน Carotenoid Handbook (Britton *et al.*, 2004) ส่วนสารสกัดละเอียดลำดับชั้นอื่น พบว่าเป็นสารผสมระหว่างสารประกอบฟีนอลิก แคโรทีนอยด์และแซนโทฟิลล์ และจากผลการวิเคราะห์ด้วย IR พบ functional group ของ C-H, CH_3 และ -C=C- (ภาพผนวกที่ 11) ซึ่งพบ functional group เหล่านี้ในโครงสร้างของสารแคโรทีน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าพบสารแคโรทีนอยด์จากสารสกัดละเอียดลำดับชั้นที่ 5 และพบสารผสมระหว่างสารประกอบฟีนอลิก แคโรทีนอยด์และแซนโทฟิลล์จากสารสกัดละเอียดลำดับชั้นที่ 1-4 (ตารางที่ 20) และจากผลการวิเคราะห์ด้วย UV-VIS spectrophotometer จากการทดลองที่ 3.4 ที่สกัดหยาบและสกัดละเอียดด้วย เฮกเซน:อะซิโตน:เมธานอล ในอัตราส่วน 8:1:1 (โดยปริมาตร) พบว่าสารสกัดละเอียดทุกลำดับชั้น มีพีคที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดอยู่ในช่วง 400-500 นาโนเมตร (ภาพผนวกที่ 8) ซึ่งเป็นช่วงการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารแคโรทีนอยด์และแซนโทฟิลล์ และจากผลการวิเคราะห์ด้วย IR ที่พบ functional group ของ -OH, CH_3, -C=C- และ $C_6H_{10}OH$ (ภาพผนวกที่ 12) ซึ่งพบ ในโครงสร้างของสารแซนโทรฟิลล์ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าพบสารแซนโทฟิลล์จากสารสกัดละเอียดทุกลำดับชั้น (ตารางที่ 20)

ตารางที่ 20 ผลการวิเคราะห์สารสกัดละเอียดด้วย UV-VIS spectrophotometer และ Infrared spectrophotometer (IR)

การทดลองที่	UV-VIS และ IR spectrophotometer	
	ลำดับชั้น	สารที่พบ
3.1	1,2,3,4,5	สารประกอบฟีนอลิก+แคโรทีนอยด์+แซนโทฟิลล์
	6	สารประกอบฟีนอลิก
3.2	1,2,3,4,5	สารประกอบฟีนอลิก+แคโรทีนอยด์+แซนโทฟิลล์
3.3	1,2,3,4	สารประกอบฟีนอลิก+แคโรทีนอยด์+แซนโทฟิลล์
	5	แคโรทีนอยด์
3.4	1,2,3,4,5,6	แซนโทฟิลล์

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu method โดยการสกัดหยาบด้วยเมทธานอล 80% และสกัดละเอียดด้วยเอทธิลอะซิเตต : เฮกเซน ในอัตราส่วน 1:1 (โดยปริมาตร) พบว่าสารสกัดละเอียดในแต่ละลำดับชั้นมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 29.99, 60.56, 75.16, 84.05 และ 68.86 มิลลิกรัม/100 กรัม ตามลำดับ รวมมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้เท่ากับ 318.62 มิลลิกรัม/100 กรัม (ตารางที่ 21)

ตารางที่ 21 ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้

สารสกัดละเอียดลำดับที่	ปริมาณ (มิลลิกรัม/100 กรัม)
1	29.99
2	60.56
3	75.16
4	84.05
5	68.86
รวม	318.62

2.2 การตรวจสอบกลุ่มสารธรรมชาติเบื้องต้น (Phytochemical method)

2.2.1 การตรวจหาสารอัลคาลอยด์ (Alkaloids)

ผลการทดลองพบว่าสารสกัดละเอียดที่ได้จากการทดลองที่ 3.1 , 3.2 และ 3.3 ไม่พบการตกตะกอนของอัลคาลอยด์ทั้งการทดสอบกับ Mayer's Wagner's Dragendoff's และ Kedde's ส่วนสกัดละเอียดที่ได้จากการทดลองที่ 3.4 พบว่าสารสกัดละเอียดในลำดับชั้นที่ 5 มีการตกตะกอนของอัลคาลอยด์ แสดงว่าสารสกัดละเอียดที่ได้จากการสกัดสารแซนโทฟิลล์ลำดับชั้นที่ 5 มีสารอัลคาลอยด์ผสมอยู่ ส่วนลำดับชั้นอื่นๆ และสารสกัดละเอียดที่ได้จากการสกัดสารประกอบฟีนอลิกและแคโรทีนอยด์ไม่มีสารอัลคาลอยด์ผสมอยู่ (ตารางผนวกที่ 1)

2.2.2 การตรวจสอบสารซาโปนินโดยการทำให้เกิดฟอง

ผลการทดลองพบว่า สารสกัดละเอียดในทุกลำดับชั้นที่ได้จากการทดลองที่ 3.1, 3.2, 3.3 และ 3.4 ไม่พบการเกิดฟองของซาโปนิน แสดงว่าสารสกัดละเอียดทั้งหมดไม่มีสารซาโปนินอยู่ (ตารางผนวกที่ 1)

2.2.3 การตรวจสอบสารฟลาโวนอยด์ด้วย Cyanidin test

ผลการทดลองพบว่าสารสกัดละเอียดจากการทดลองที่ 3.1 พบการเปลี่ยนสีเป็นสีแดง-ส้ม ในลำดับชั้นที่ 3 และ 4 การทดลองที่ 3.2 พบการเปลี่ยนสีเป็นสีแดง-ส้ม ในลำดับชั้นที่ 2 และ 4 และการทดลองที่ 3.4 พบการเปลี่ยนสีเป็นสีแดง-ส้ม ในลำดับชั้นที่ 5 ส่วนการทดลองที่ 3.3 ไม่พบการเปลี่ยนสีในทุกลำดับชั้น สรุปได้ว่าสารสกัดละเอียดในชั้นที่มีการเปลี่ยนสีมีสารฟลาโวนอยด์อยู่ (ตารางผนวกที่ 1)

2.2.4 การตรวจสอบสารแทนนิน

ก. การทำปฏิกิริยากับเฟอริกคลอไรด์ (Ferric chloride)

ผลการทดลองพบว่า สารสกัดละเอียดจากการทดลองที่ 3.1 มีการเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำเงินอ่อน ในลำดับชั้นที่ 2, 5 และ 6 ส่วนสารสกัดละเอียดจากการทดลองที่ 3.2, 3.3 และ 3.4 ไม่พบการเปลี่ยนสี สรุปได้ว่าสารสกัดละเอียดจากการทดลองที่ 3.1 ลำดับชั้นที่ 2, 5 และ 6 มีสารแทนนินที่สามารถทำปฏิกิริยากับเฟอริกคลอไรด์ (ตารางผนวกที่ 1)

ข. ความสามารถในการตกตะกอนโปรตีน

ผลการทดลองพบว่า สารสกัดละเอียดจากการทดลองที่ 3.1 มีการตกตะกอนของเจลาตินในลำดับชั้นที่ 2, 3, 4, 5 และ 6 ส่วนสารสกัดละเอียดจากการทดลองที่ 3.2, 3.3 และ 3.4 ไม่พบการตกตะกอนของเจลาติน สรุปได้ว่าสารสกัดละเอียดจากการทดลองที่ 3.1 ลำดับชั้นที่ 2, 3, 4, 5 และ 6 มีสารแทนนินที่สามารถตกตะกอนเจลาติน (ตารางผนวกที่ 1) พบว่าสารแทนนินเป็นสารที่อยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งสามารถใช้รักษาอาการท้องร่วงและลดอาการเป็นพิษเนื่องจากโลหะหนักได้ นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ในการต้านมะเร็งและเอดส์อีกด้วย (Padua *et al.*, 1999)

จากผลการศึกษาการสกัดด้วยวิธีการต่างๆ จากตัวอย่างใบมันสำปะหลัง และการวิเคราะห์ด้วย UV-VIS spectrophotometer และ Infrared spectrophotometer สรุปได้ว่าพบสารประกอบฟีนอลิก สารแคโรทีนอยด์และแซนโทฟิลล์ และการตรวจสอบทาง Phytochemical method พบสารอัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์และแทนนิน โดยวิธีการที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิก คือการทดลองที่ 3.1 ที่ทำการสกัดหยาบด้วยเมทธานอล 95% และสกัดละเอียดด้วยเอทธิลอะซิเตรต : เฮกเซน ในอัตราส่วน 1:1 (โดยปริมาตร) วิธีการที่เหมาะสมในการสกัดสารแคโรทีนอยด์ คือการทดลองที่ 3.3 ที่ทำการสกัดหยาบด้วยอะซิโตน และสกัดละเอียดด้วย เฮกเซน : อะซิโตน ในอัตราส่วน 7:3 (โดยปริมาตร) และวิธีที่เหมาะสมในการสกัดสารแซนโทฟิลล์ คือการทดลองที่ 3.4 ที่ทำการสกัดหยาบและละเอียดด้วยเฮกเซน : อะซิโตน : เมทธานอล ในอัตราส่วน 8:1:1 (โดยปริมาตร) (ตารางที่ 22)

ตารางที่ 22 สรุปสารที่พบจากการวิเคราะห์ด้วย UV-VIS spectrophotometer Infrared spectrophotometer (IR) และ Phytochemical

สารสกัด		UV-VIS และ IR spectrophotometer		Phytochemical	
หยาบ	ละเอียด	ลำดับชั้น	สารที่พบ	ลำดับชั้น	สารที่พบ
เอทธานอล 95%	เอทธิลอะซิเตต:เฮกเซน (1:1)	1,2,3,4,5	สารประกอบฟีนอลิก+แคโรทีนอยด์+แซนโทฟิลล์	3,4	ฟลาโวนอยด์
		6	สารประกอบฟีนอลิก	2,3,4,5,6	แทนนิน
เมทธานอล 80%	เอทธิลอะซิเตต:เฮกเซน (1:1)	1,2,3,4,5	สารประกอบฟีนอลิก+แคโรทีนอยด์+แซนโทฟิลล์	2,4	ฟลาโวนอยด์
อะซิโตน	เฮกเซน:อะซิโตน (1:1)	1,2,3,4	สารประกอบฟีนอลิก+แคโรทีนอยด์+แซนโทฟิลล์	-	-
		5	แคโรทีนอยด์		
เฮกเซน:อะซิโตน:เมธานอล (8:1:1)		1,2,3,4,5,6	แซนโทฟิลล์	5	อัลคาลอยด์,
					ฟลาโวนอยด์

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

ผลการใช้ใบมันสำปะหลังแห้งในสูตรอาหารต่อภูมิคุ้มกันของไก่กระทง สามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

1. ไก่กระทงกลุ่มที่กินอาหารที่มีใบมันสำปะหลังในสูตรอาหาร มีจำนวนเซลล์แมคโครฟาจที่จับกินเม็ดเลือดแดงแกะชนิด opsonized sheep red blood cell (opsonized SRBC) และ unopsonized sheep red blood cell (unopsonized SRBC) มากกว่าไก่กระทงที่กินอาหารที่ไม่มีระดับใบมันสำปะหลังในสูตรอาหาร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

2. ระดับแอนติบอดีของไก่กระทงกลุ่มที่ไม่ได้กินและกลุ่มที่กินใบมันสำปะหลังในสูตรอาหารในทุกระดับ มีระดับของแอนติบอดีแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

3. ไก่กระทงกลุ่มที่กินอาหารที่มีระดับใบมันสำปะหลัง 5 % ในสูตรอาหาร มีการเจริญของเซลล์ลิมโฟซัยท์ ชนิดที มากกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในวันที่ 0 และ 3 ภายหลังการฉีดกระตุ้นด้วย 7% SRBC และไก่กระทงกลุ่มที่กินอาหารที่มีใบมันสำปะหลัง 5 และ 7% ในสูตรอาหาร มีการเจริญของเซลล์ลิมโฟซัยท์มากกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในวันที่ 7 ภายหลังการฉีดกระตุ้นด้วย 7% SRBC

4. ไก่ที่กินอาหารที่มีระดับใบมันสำปะหลัง 0 และ 3% ในสูตรอาหาร มีปริมาณ GSH ในเม็ดเลือดแดงต่ำกว่าไก่ที่กินอาหารสูตรที่มีระดับใบมันสำปะหลัง 5 และ 7% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

5. ไก่กระทงอายุ 21 วัน กลุ่มที่กินอาหารที่มีใบมันสำปะหลังในสูตรอาหารมีค่า TAC สูงกว่ากลุ่มอื่นอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และในส่วนของไก่กระทงอายุ 28 และ 35 วัน กลุ่มที่กินอาหารที่มีใบมันสำปะหลังมี ค่า TAC สูงกว่ากลุ่มที่กินอาหารที่ไม่มีใบมันสำปะหลังอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

6. ไก่ที่กินอาหารที่มีใบมันสำปะหลังในระดับที่แตกต่างกัน ในช่วงอายุ 0-3, 3-6 และ 0-6 สัปดาห์ มีปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวัน น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อตัว ลดลงตามระดับของใบมันสำปะหลังที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (FCR) ด้อยลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในขณะที่เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

7. การสกัดด้วยวิธีการต่างๆ จากตัวอย่างใบมันสำปะหลัง พบสารประกอบฟีนอลิกในปริมาณ 318.62 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม สารแคโรทีนอยด์และแซนโทฟิลล์ และการตรวจสอบทาง Phytochemical method พบสารอัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ และแทนนิน

สรุปได้ว่าไก่กระทงที่กินอาหารที่มีใบมันสำปะหลังในสูตรอาหาร มีสมรรถภาพการผลิตลดลงตามระดับใบมันสำปะหลัง แต่ในทางตรงกันข้ามไก่กระทงที่กินอาหารที่มีใบมันสำปะหลังกลับมีภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังมีปริมาณกลูตาไธโอนและแอนติออกซิแดนซ์รวมเพิ่มขึ้นตามระดับใบมันสำปะหลังและปริมาณการกินของไก่กระทง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าไก่กระทงที่กินอาหารที่มีใบมันสำปะหลังมีสุขภาพที่ดีขึ้นเนื่องจากพบสารออกฤทธิ์ที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ คือ สารประกอบฟีนอล แคโรทีนอยด์และแซนโทฟิลล์ และยังตรวจพบโครงสร้างของสารอัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์และแทนนินด้วย

ข้อเสนอแนะ

1. จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าสามารถใช้ใบมันสำปะหลังในสูตรอาหารไก่กระทงได้ แต่เนื่องจากไก่กระทงจะมีสมรรถภาพการผลิตลดลงตามปริมาณใบมันสำปะหลังที่เพิ่มมากขึ้นดังนั้นจึงไม่ควรใช้เกิน 5 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร

2. จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าสมรรถภาพการผลิตลดลง ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงการลดระดับเยื่อใยในใบมันสำปะหลัง หรือใช้ใบมันสำปะหลังที่มีเยื่อใยต่ำ หรือใช้ร่วมกับกากถั่วเหลืองกะเทาะเปลือก ให้ระดับเยื่อใยในอาหารไม่เกิน 4% เพื่อให้มีความเป็นไปได้ในการใช้ใบมันสำปะหลังในอาหารไก่กระทงได้โดยไม่ส่งผลเสียต่อสมรรถภาพการผลิต

3. จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าการใช้ใบมันสำปะหลังในสูตรอาหารไก่กระทงมีผลทำให้มีปริมาณ GSH เพิ่มขึ้น หากมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงปริมาณ GSSG และเอนไซม์ต่างๆ ในระบบกลูตาไธโอน จะทำให้สามารถอธิบายระบบกลูตาไธโอนได้อย่างละเอียดยิ่งขึ้น

4. จากการศึกษาในครั้งนี้พบวิธีที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิก แคโรทีนอยด์และแซนโทฟิลล์จากใบมันสำปะหลัง ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงสารปลีกย่อยที่อยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกและแคโรทีนอยด์รวมทั้งปริมาณที่มีอยู่ในใบมันสำปะหลัง เพื่อเป็นแนวทางในการนำไปใช้ประโยชน์ในอาหารสัตว์รวมถึงความสามารถในการเพิ่มภูมิคุ้มกันได้ชัดเจนยิ่งขึ้น

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก. 2548. **สมุนไพรแก้พิษสัตว์.** แหล่งที่มา: http://www.dtam.moph.go.th/database/detail1007.php?regNo=12&id=1007&selectmenu=, 21 ธันวาคม 2548.

กฤษฎา สัมพันธารักษ์. 2526. **แทนนินกับคุณค่าทางอาหาร.** ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

กิติ ศรีสุภาพ. 2527. **ภูมิคุ้มกันวิทยาทางสัตวแพทย์.** คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

จงรักษ์ แก้วประสิทธิ์. 2547. **เอกสารประกอบการสอน เคมีวิเคราะห์เชิงปริมาณและการคำนวณความคลาดเคลื่อนจากผลการทดลอง.** สาขาเคมี สายวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์. 2532. **มันสำปะหลังการปลูก อุตสาหกรรมแปรรูปและการใช้ประโยชน์.** ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ไชยรัตน์ เพ็ชรลานุวัฒน์. 2536. **การผลิตใบมันสำปะหลังเพื่อใช้เป็นแหล่งโปรตีนสำหรับอาหารสัตว์.** วิทยานิพนธ์วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ดนัย ศุภาหาร. 2537. พฤกษศาสตร์และพันธุศาสตร์มันสำปะหลัง, น. 14-30. *ใน* ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง กรมวิชาการเกษตร, ผู้รวบรวม. **เอกสารวิชาการมันสำปะหลัง.** กรุงเทพฯ.

ทัศนีย์ สุโกศล. 2541. แอนติเจนและแอนติบอดี, น. 31-59. *ใน* สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ, บรรณาธิการ. **อิมมูโนวิทยา.** บริษัท พริ้นต์โพร จำกัด, กรุงเทพ.

นวลจันทร์ พารักษา, ทวีศักดิ์ ส่งเสริม และ สินชัย พารักษา. 2548. การวัดฤทธิ์การต้านออกซิเดชั่น, น. 20-24. *ใน* นวลจันทร์ พารักษา และ สิรินทร์พร สินธุวณิช, บรรณาธิการ. **คู่มือการวิจัย 3 การทดสอบฤทธิ์ของสมุนไพรในสัตว์ปีกและสุกร.** โรงพิมพ์เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด, กรุงเทพฯ.

ปนัดดา โรจน์พิบูลสถิตย์. 2546. **ชีวเคมีทางการแพทย์.** บุ๊คเน็ท จำกัด, กรุงเทพฯ.

พรทิพย์ วิรัชวงศ์. 2549. **อนุมูลอิสระ (FREE RADICALS)/สารต้านอนุมูลอิสระ (ANTIOXIDANTS).** แหล่งที่มา: http://www.gpo.or.th/rdi/html/antioxidants.html, 7 กันยายน 2549.

พิชัย สราญรมย์. 2528. **ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับมันสำปะหลัง สำหรับการศึกษาระดับปริญญา.** คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

มโนวิช เรืองดิษฐ์. 2549. **กลูตาไธโอน (Glutathione) สารต้านอนุมูลอิสระหลักของร่างกาย.** แหล่งที่มา: http://www.dss.go.th/dssweb/st-articles/files/bsp_9_2549_Glutathione.pdf, 22 ธันวาคม 2549.

วิบูลย์ศรี พิมลพันธ์. 2541. กายวิภาคศาสตร์ของระบบภูมิคุ้มกัน, น. 12-30. *ใน* สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ, บรรณาธิการ. **อิมมูโนวิทยา.** บริษัท พริ้นต์โพร จำกัด, กรุงเทพฯ.

วิภาสิริ เสภารัตนานันท์, อุทัย คันโธ, สุกัญญา จัตตุพรพงษ์ และ อรุณี อิงคากุล. 2548. การใช้มันเส้นและใบมันสำปะหลังในสูตรอาหารไก่ไข่ต่อคุณภาพและปริมาณโปรตีนในไข่ไก่, *ใน* **เรื่องเต็มการประชุมวิชาการ ครั้งที่ 43 สาขาสัตว์ สัตวแพทย์.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วีระศักดิ์ สามี. 2549. แคโรทีนอยด์: โครงสร้างทางเคมีและกลไกที่มีผลต่อการทำหน้าที่ของร่างกาย. **Srinakharinwirot Journal of Phamaceutical Science** 10 (1): 58-66.

ศิริรัตน์ บัวผัน. 2546. **ผลของการเพิ่มระดับมันเส้นในอาหารผสมเสร็จต่อปริมาณโซมาติกเซลล์ จุลินทรีย์ อะฟลาท็อกซิน และเปอร์ออกซิเดสในน้ำนมโค.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สกล ไข่คำ. 2547. การเป็นพิษของกรดไฮโดรไซยานิค. **วิจัยและส่งเสริมวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้** 21 (2): 43-51.

สรัสนันทร์ สว่างคำ. 2549. **ผลของการใช้มันสำปะหลังในสูตรอาหารต่อระดับภูมิคุ้มกันในไก่กระทง.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สาโรช ค้าเจริญ และ เยาวมาลย์ ค้าเจริญ. 2531. **การใช้มันสำปะหลังในอาหารสุกร เป็ด และไก่.** ชุมนุมสหกรณ์ผู้เลี้ยงสุกร จำกัด, กรุงเทพฯ.

สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ. 2541. บทนำ, น. 1-6. *ใน* สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ, บรรณาธิการ. **อิมมูโนวิทยา.** บริษัท พริ้นต์โพร จำกัด, กรุงเทพฯ.

สุพจน์ ศุภนันธร. 2548. **การสกัดและการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพรในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุรีย์วรรณ พันธ์นรา, พรศรี ชัยรัตนายุทธ์, ประวีร์ วิชชุลตา, สมจิต สุรพัฒน์, อุทัย คันโธ และ วงศ์อนันต์ ณรงค์วาณิชการ. 2549. ผลของการใช้ใบมันสำปะหลังแห้งเป็นอาหารโคนมต่อจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและโคไลฟอร์มในน้ำนมดิบ, *ใน* **เรื่องเต็มการประชุมวิชาการครั้งที่ 44 สาขาสัตว์ สัตวแพทย์.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุวิน ว่องวัจนะ. 2549. **แอนติบอดี.** แหล่งที่มา: http://202.28.95.5/11Department/micro/public html/TeachingAid/Suwin/Ab.pdf, 20 ธันวาคม 2549.

องอาจ เลาหวินิจ. 2542. **เอกสารคำสอนวิชาภูมิคุ้มกันทางสัตวแพทย์.** ภาควิชาจุลชีววิทยาและวิทยาภูมิคุ้มกัน คณะสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อรอนงค์ มูลธง. 2549. **ผลของการใช้มันสำปะหลังในสูตรอาหารต่อการหมักย่อยในลำไส้ กลูตาไธโอนและภูมิคุ้มกันในสุกรระยะรุ่น.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อนุชา ชลอกลาง. 2544. **การใช้มันสำปะหลังทดแทนข้าวโพดในอาหารสุกรระยะรุ่น-ขุน.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อุทัย คันโธ. 2529. **อาหารและการผลิตอาหารเลี้ยงสุกรและสัตว์ปีก.** ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

อุทัย คันโธ และ สุกัญญา จัตตุพรพงษ์. 2547. **การใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์ : ผลการใช้และข้อมูลการวิจัยในประเทศไทย.** ศูนย์ค้นคว้าและพัฒนาวิชาการอาหารสัตว์ สถาบันสุวรรณวาจกกสิกิจฯ และภาควิชาสัตวบาล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

โอภาส พิมพา. 2547. **ผลของแทนนินที่ได้จากใบกระถินต่อการย่อยได้ของโปรตีนหยาบและกรดอะมิโนที่สำคัญในส่วนรูเมนและลำไส้เล็ก.** แหล่งที่มา: http:www.clinictech.most.go.th/techlist/0214/agriculture/00000-237.html, 5 สิงหาคม 2550.

Abbas, A.K. and A.H. Lichtman. 2003. **Cellular and molecular immunology.** Elsevier Science, USA.

A.O.A.C., 1997. **Official methods of the association of official analytical chemists (16th ed.)**. Washington, DC.

Benzie, Iris F.F. and J.J. Strain. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The ERAP Assay. **Analytical Biochem.** 239: 70-76.

Britton, G., S. Liaaen-Jensen and H. Pfander. 2004. **Carotenoids handbook**. Springer, Germany.

Cakir, A, A. Mavi, A. Yildirim, M.E. Duru, M.Harmandar and C. Kazaz. 2005. **Isolation and characterization of antioxidant phenolic compounds from the aerial parts of *Hypericum hyssopifolium* L. by activity-guided fractionaton**. Scientia Horticulturae. date 25 April 2005.

Cheeke, P.R. and L.R. Shull. 1985. **Natural toxicants in feed and poisonous pant.** AVI Publishing Company, Conecticut.

Conn, E.E. 1994. Cyanogenesis-A personal perpective, pp. 31-44. *In* M. Bokanga, A.J.A. Essers, N. Poulter, H. Roslting and O. Tewe, eds. **Acta horticulturae: International workshop on cassava safety.** Ibadan, Nigeria.

Dröge, W., K. Schulze-osthoff, S. Mihm, D. Galter, H. Schenk, H. Eck, S. Roth and H. Gmunder. 1994. Function of glutathione and glutathione disulfide in immunology and immunopathology. **FASEB J.** 8: 1131-1138.

Dröge, W. and R. Breikreutz. 2000. Glutathione and immune function. **Proc. Nutr. Soc** 59: 595-600.

Eruvbetine, D., I.D. Tajudeen, A.T. Adeosun and A.A. Olojede. 2003. Cassava (*Manihot esculenta*) leaf and concentrate in diets for broiler chickens. **Bioresource Tech.** 86 (3): 277-281.

Fasuyi, A.O. 2005. Nutrient composition and processing effects on cassava leaf (*Manihot esculenta*, Crantz) Antinutrients. **Pakis. J. Nutr.** 4 (1): 37-42.

Grune, T., T. Reinheckel and K.J.A. Davies. 1997. Degradation of oxidized proteins in mammalian cells. **FASEB.J.** 11: 526-534.

Halliwell, B. and J.M.C. Gutteridge. 1989. **Free radicals in biology and medicine.** 2 ed. Clarendon, UK.

Harborne, J.B. 1989. **Method in plant biochemistry**. Vol.1 Plant Phenolic. Plant Science Laboratories. University of Reading. UK.

Harborne, J.B. 1998. **Phytochemical methods.** 3 ed. Edmundsbury Press, UK.

Hillocks, R.J. and J.M. Thresh. 2002. Cassava botany and physiology, *In* R.J. Hillocks, J.M. Thresh and A.C. Bellotti, eds. **Cassava Biology, Production and Utilization.** CABI Publishing, USA.

Hiu-Tat, C., K. Katherine, O.M. Jonathan, M.C. Suzanne and J. Anthony. 2001. Quantifying complement-mediated phagocytosis by human monocyte-derived macrophages. **Immmunol. and Cell Biol**. 79: 429-435.

Hornero-Mendez, D. and M.I. Minguez-Mosquere. 2001. Rapid spectrophotometric determination of red and yellow isochromic carotenoid fractions in paprika and red pepper oleoresin. **J. Agric. Food Chem.** 49:3584-3588.

Juniata College. 2006. **Thin layer chromatography of vegetables.** Available Source: www.juniata.edu/services/ScienceInMotion/standardslabs/20%20%20TLC%20of%20Veggies.doc, March 8, 2007.

Kidd, P.M. 1997. Glutathione: Systemic protectant againt oxidative and free radical damage. **Alternative Medicine Review** 2 (3): 115-176.

Konjufca, V.K., W.G. Bottje, T.K. Bersi and G.F. Erf. 2004. Infiuence of dietary vitamin E on phagocytic functions of macrophages in broilers. **Poult. Sci.** 83: 1530-1534.

Lancaster, P.A., J.S. Ingran, M.Y. Lim and D.G. Coursey. 1982. Traditional cassava-based food: survey of processing techniques. **Econ. Bot.** 36 (1): 12-45.

Maisuthisakul, P., M. Suttajit and R. Pongsawatmanit. 2005. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. **Food Chem.** 100 : 1409-1418.

Marks, D.B., A.D. Marks and C.M. Smith. 1996. **Basic medical biochemistry:a clinical approach.** Williams and Wilkins, Bangkok.

Mary, A., D. Troy, A.R. Vikram, B. Leo, H.M. Kevin, C.M. Jennifer, L.H. Stanley and S. Arne. 2001. Eosinophil peroxidase oxidation of thiocyanate. **J. Biol. Chem.** 276: 215-224.

Murry, R.K., D.K. Granner, P.A. Mayers and V. W. Rodwell. 1996. **Harper's Biochemistry**. 24 ed., Practice Hall International, London.

Nartey, F. 1973. Biosynthesis of cyanogenic glucosides in cassava (Manihot spp.), pp. 73-87. *In* B. Nestel and R. Macintyre, eds. **Chronic Cassava Toxicity.** Int. Dev. Res. Center, IDRC-010e, Canada.

National Research Council. 1994. **Nutrient requirement of poultry.** 9 ed., Revised BC. National Academy Press, Washington, D.C.

Onwueme, I.C. 1978. **The tropical tuber crops**. The Pitman Press, Great Britain.

Onwueme, I.C. and W.B. Charles. 1994. **Tropical root and tuber crops: Production, perspectives and future prospects**. FAO Plant Production and Protection Paper. Rome, Italy.

Padua, L.S., N. Bunyapraphatsara and R.H.M.J. Lemmens. 1999. Introduction, pp. 1-1. *In* L.S. Padua, N. Bunyapraphatsara and R.H.M.J. Lemmens, eds. **Plant resources of south-east asia.** Prosea Foundation, Indonesia.

Reddy, A.C. and B.R. Lokesh. 1994. Effect of dietary tumeric (*Curcuma longa*) on irom-induced lipid peroxidation in the rat liver. **Food Chem. Toxicol**. 32(3): 279-283.

Robinson, M.K., M.L. Rodrick, D.O. Jacobs, J.D. Rounds, K.H. Collins, I.B. Saporoschetz, J.A. Mannick and D.W. Wilmore. 1993. Glutathione depletion in rats impairs T-cell and macrophage immune function. **Archives of Surgery** 128 (1): Article.

Roger, D.U. 1959. Cassava leaf protein. **Econ. Bot**. 13(3): 261-263.

Sumere, C.F.Van. 1989. Phenol and Phenolic acids, *In* R.J. Grayer, ed. **Method in plant biochemistry.** University of Reading, UK.

Tadashi, M., M. Wongi and S.L. Hyun. 2002. Lymphocyte proliferation response during *Eimeria tenella* infection assessed by a new, reliable, nonradioactive colorimetric assay. **Avian Dis**. 46 (1): 10-16.

Thin, N.N. and M.S.M. Sosef. 1999. Euphorbia,pp, pp. 263-272. *In* L.S. Padua, N. Bunyapraphatsara and R.H.M.J. Lemmens, eds. **Plant resources of south-east asia.** Prosea Foundation, Indonesia.

Tizard, I.R. 2004. **Veterinary immunology.** 7 ed. Elsevier, China.

Turkmen, N., F. Sari and Y.S. Volioglu. 2005. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. **Food Chem.** 99: 835-841.

ภาคผนวก

Reagent ที่ใช้ใน Phytochemical method

1. Dragendoff's reagent

ส่วนที่ 1 Bismuth nitrate ($BiN_3O_9(H_2O)_5$) 8 กรัม ละลายใน 30% HNO_3 12 มิลลิลิตร
ส่วนที่ 2 Potassium iodide (KI) 27.2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร
นำส่วนที่ 1 ผสมกับส่วนที่ 2 แล้วเติมน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร

2. Kedde's reagent

ละลาย 3,5-dinitrobenzoic acid ($(NO_2)_2C_6H_3COOH$) 1 กรัม ในสารละลายเอทธานอล 100 มิลลิลิตร

3. Mayer's reagent

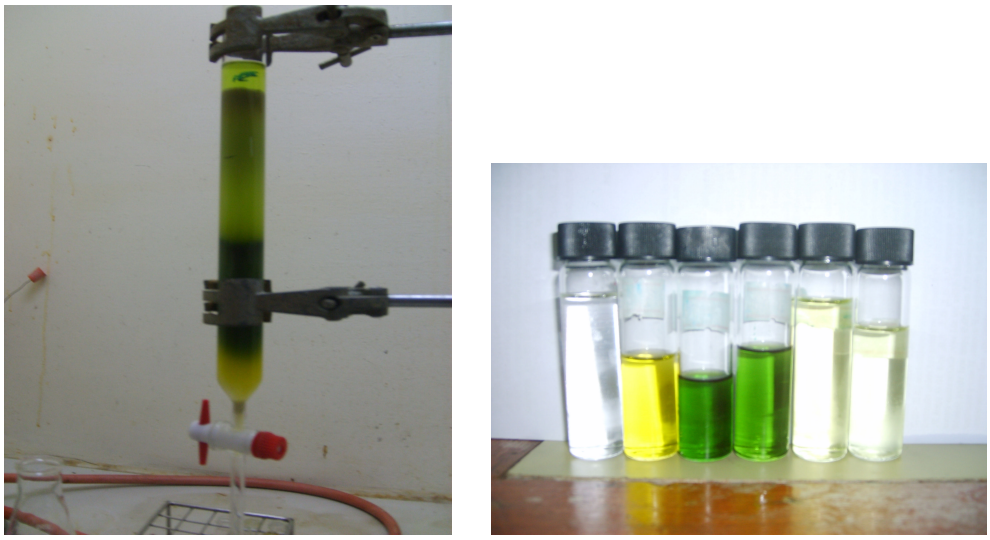
ส่วนที่ 1 Mercuric chloride ($HgCl_2$) 1.36 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร
ส่วนที่ 2 Potassium iodide (KI) 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร
นำส่วนที่ 1 ผสมกับส่วนที่ 2 เติมน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร

4. Wagner's reagent

ละลาย potassium iodide (KI) 6 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วเติมเกล็ด iodine (I) 2 กรัม เมื่อละลายหมด เติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 100 มิลลิลิตร

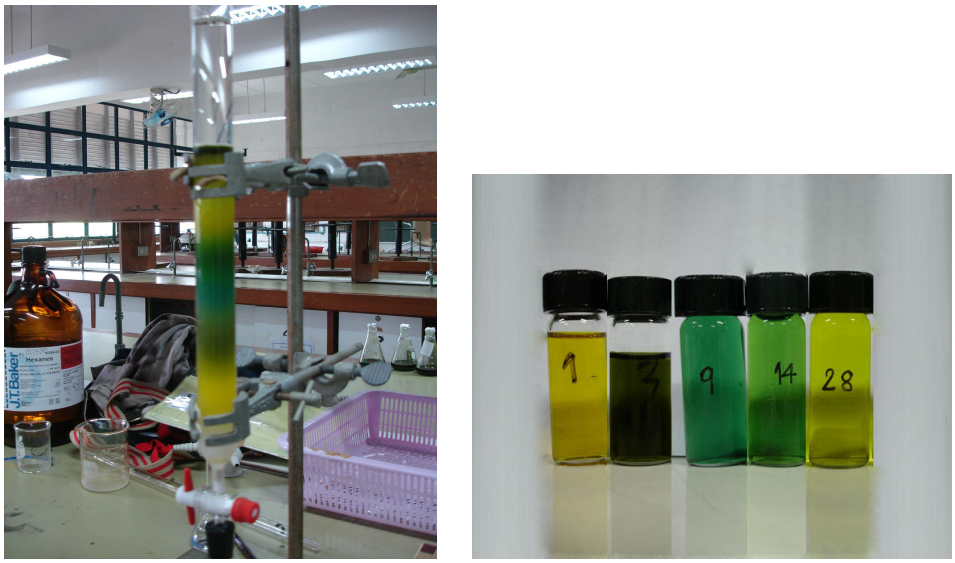
การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธี Folin-Ciocalteu method

นำตัวอย่างใบมันสำปะหลังแห้งที่เตรียมไว้สกัดหยาบด้วยเมทธานอล 80 เปอร์เซ็นต์ และสกัดละเอียดด้วยเอทธิลอะซิเตต : เฮกเซน ในอัตราส่วน 1:1 (โดยปริมาตร) นำสารสกัดละเอียดในแต่ละลำดับชั้นระเหยตัวชะออกด้วยเครื่องกลั่นสุญญากาศแบบลดความดันจนได้เป็นของเหลวหนืด เติมสารละลายเมธานอล 100 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร นำสารที่ได้มาปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดตามวิธีของ Turkmem *et al.* (2005) โดยนำสารที่ได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมสาร Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 35 % ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และน้ำปริมาตร 2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ใน ที่มืด 30 นาที จะได้สารละลายสีน้ำเงินหลังจากนั้นนำเข้าเครื่อง ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสด้านบนไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้น 1, 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 มิลลิกรัมต่อลิตร

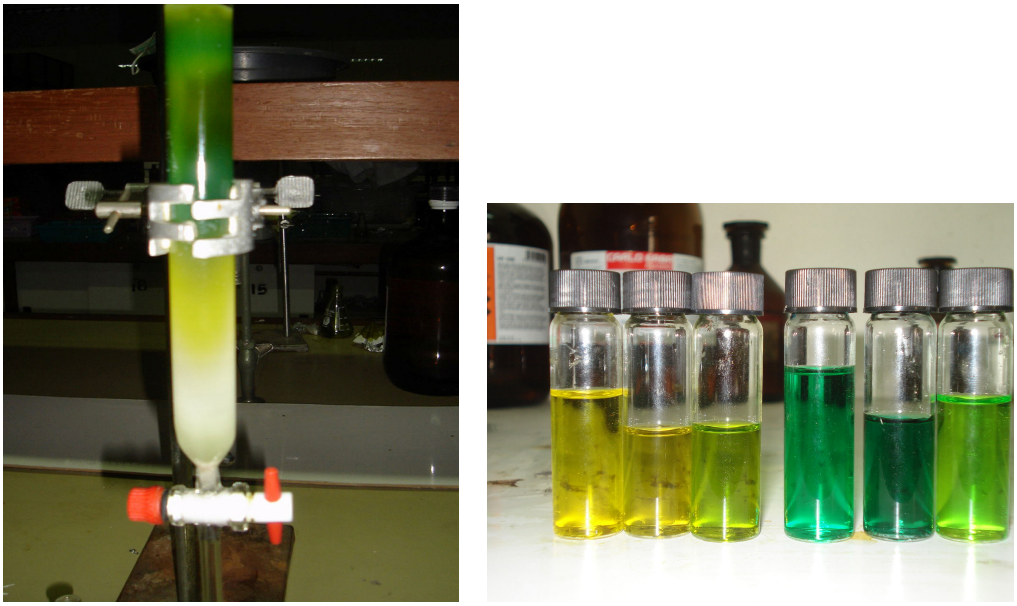


ภาพผนวกที่ 1 การแยกชั้นภายในคอลัมน์และสีของสารสกัดละเอียดของการทดลองที่ 3.1

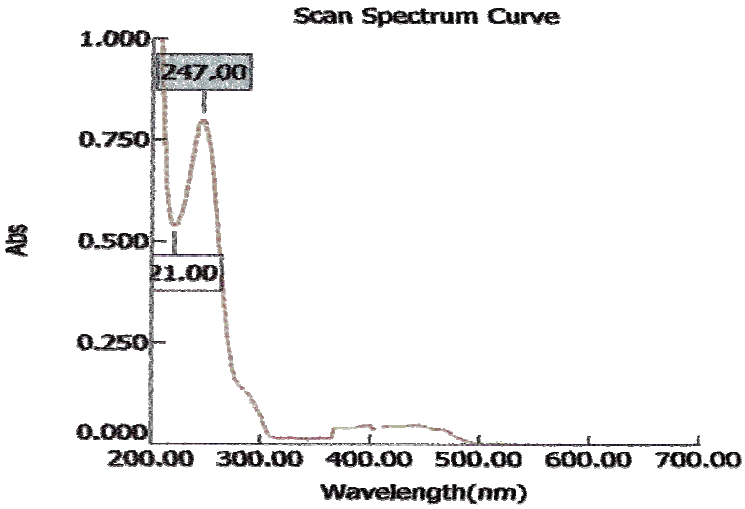
ภาพผนวกที่ 2 การแยกชั้นภายในคอลัมน์และสีของสารสกัดละเอียดของการทดลองที่ 3.2



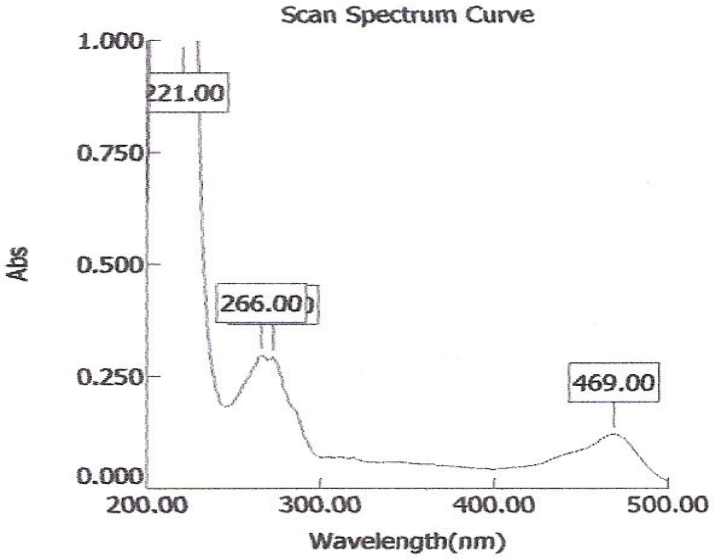
ภาพผนวกที่ 3 การแยกชั้นภายในคอลัมน์และสีของสารสกัดละเอียดของการทดลองที่ 3.3



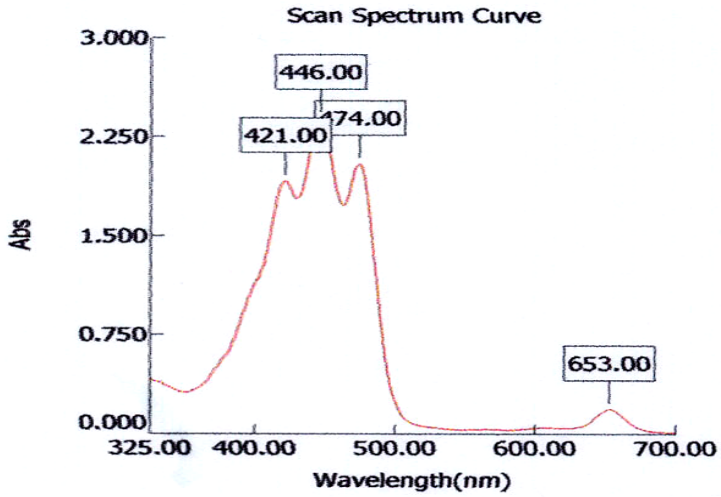
ภาพผนวกที่ 4 การแยกชั้นภายในคอลัมน์และสีของสารสกัดละเอียดของการทดลองที่ 3.4



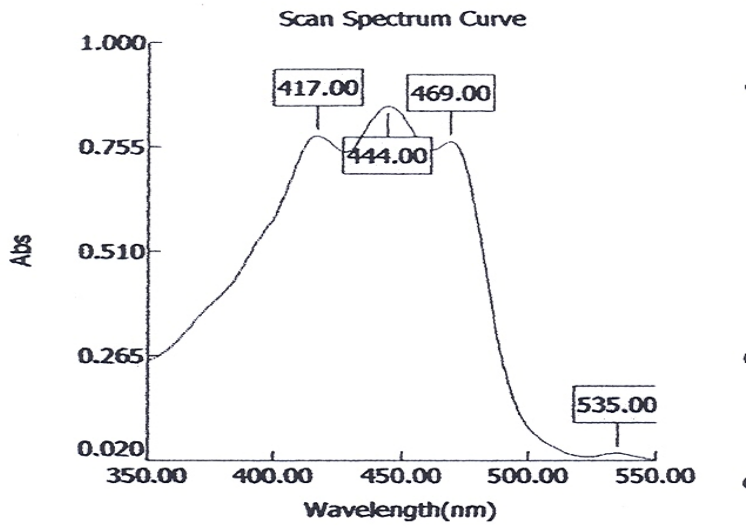
ภาพผนวกที่ 5 การวิเคราะห์ด้วย UV-VIS spectrophotometer ของสารสกัดละเอียดลำดับชั้นที่ 6 ของการทดลองที่ 3.1 โดยสกัดหยาบด้วยเอทธานอล 95% และสกัดละเอียดด้วย เอ ทธิลอะซิเตต : เฮกเซน



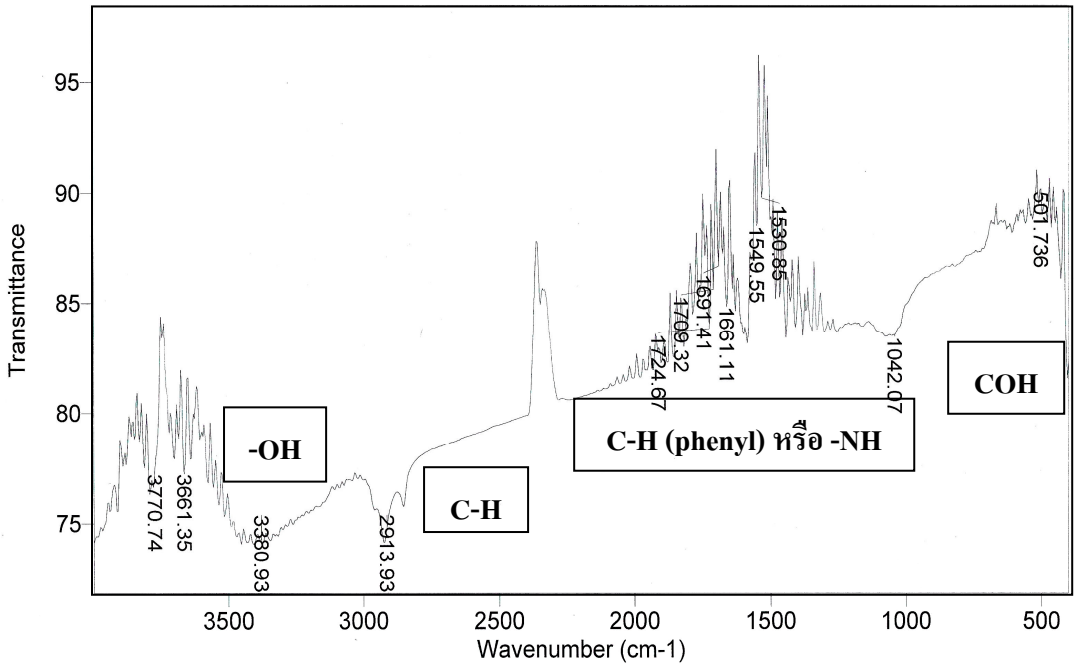
ภาพผนวกที่ 6 การวิเคราะห์ด้วย UV-VIS spectrophotometer ของสารสกัดละเอียดลำดับชั้นที่ 5 ของการทดลองที่ 3.2 โดยสกัดหยาบด้วยเมทธานอล 80% และสกัดละเอียดด้วย เอทธิลอะซิเตต : เฮกเซน



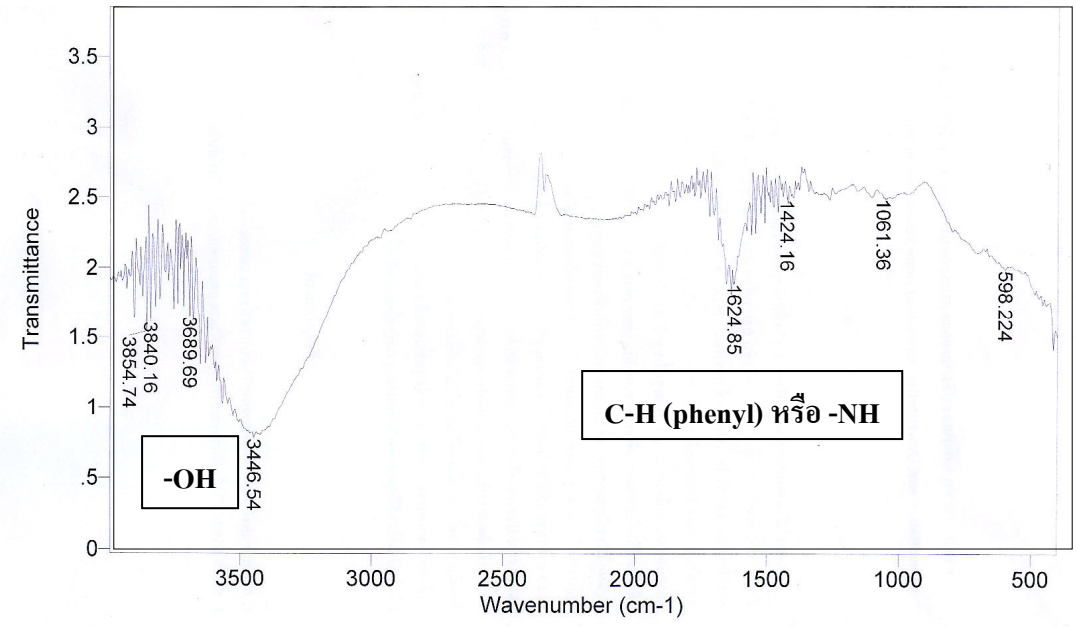
ภาพผนวกที่ 7 การวิเคราะห์ด้วย UV-VIS spectrophotometer ของสารสกัดละเอียดลำดับชั้นที่ 5 ของการทดลองที่ 3.3 โดยสกัดหยาบด้วยอะซิโตน และสกัดละเอียดด้วยเฮกเซน : อะซิโตน



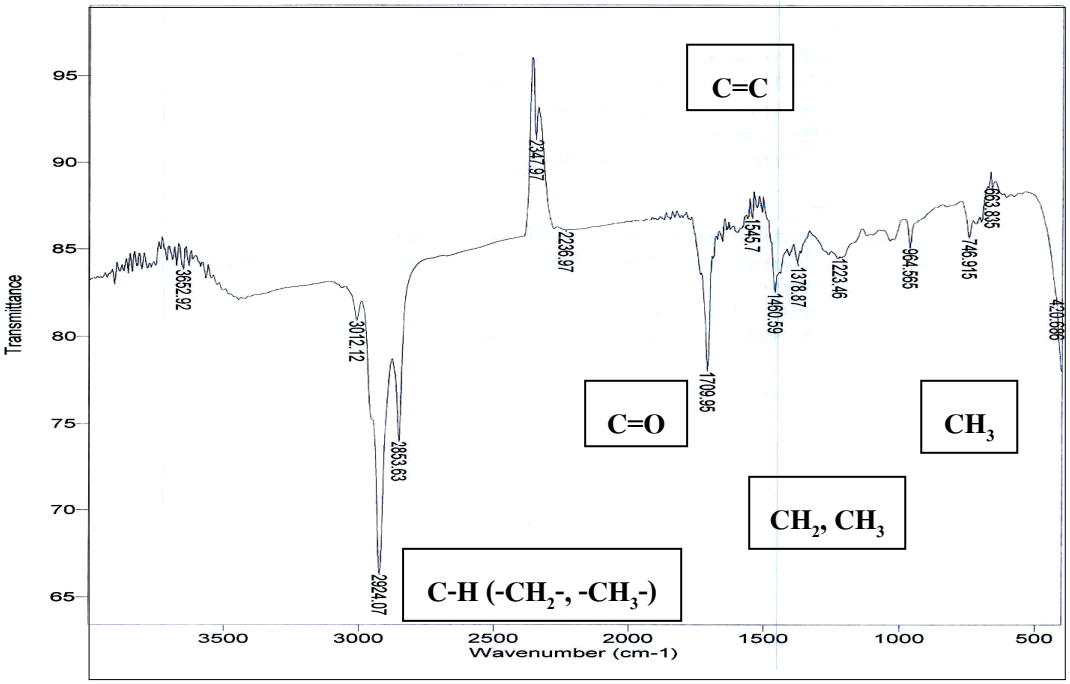
ภาพผนวกที่ 8 การวิเคราะห์ด้วย UV-VIS spectrophotometer ของสารสกัดละเอียดลำดับชั้นที่ 5 ของการทดลองที่ 3.4 โดยสกัดหยาบและละเอียดด้วย เฮกเซน: อะซิโตน: เมธานอล



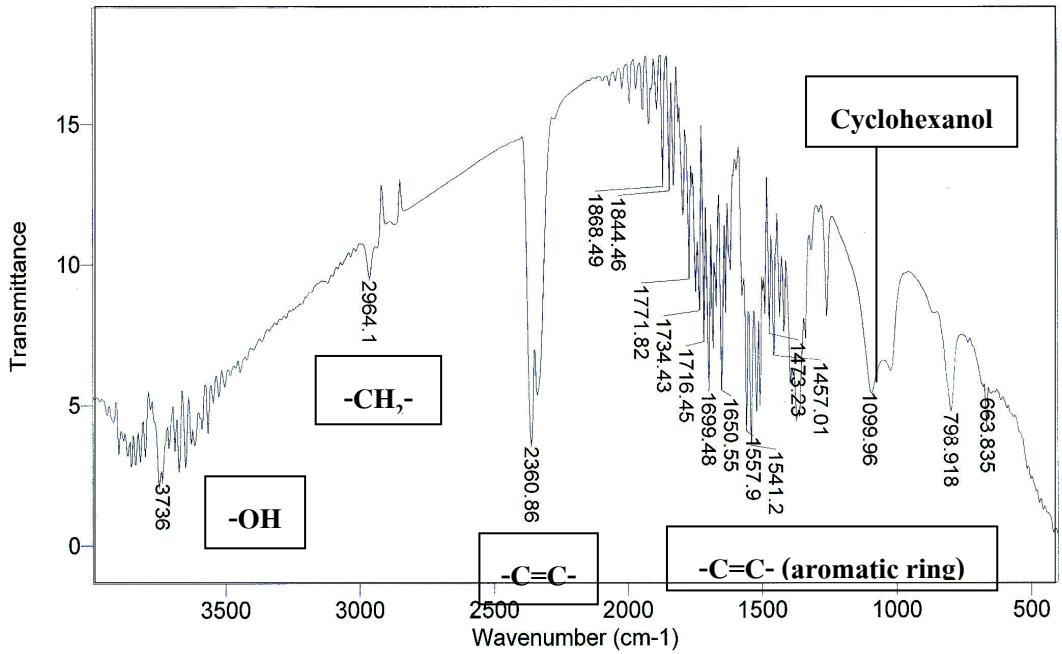
ภาพผนวกที่ 9 การวิเคราะห์ด้วย IR ของสารสกัดละเอียดลำดับชั้นที่ 6 ของการทดลองที่ 3.1 โดยสกัดหยาบด้วยเอทธานอล 95% และสกัดละเอียดด้วยเอทธิลอะซิเตต : เฮกเซน



ภาพผนวกที่ 10 การวิเคราะห์ด้วย IR ของสารสกัดละเอียดลำดับชั้นที่ 4 ของการทดลองที่ 3.2 โดยสกัดหยาบด้วยเมทธานอล 80% และสกัดละเอียดด้วยเอทธิลอะซิเตต : เฮกเซน



ภาพผนวกที่ 11 การวิเคราะห์ด้วย IR ของสารสกัดละเอียดลำดับชั้นที่ 5 ของการทดลองที่ 3.3 โดยสกัดหยาบด้วยอะซิโตน และสกัดละเอียดด้วยเฮกเซน : อะซิโตน



ภาพผนวกที่ 12 การวิเคราะห์ด้วย IR ของสารสกัดละเอียดลำดับชั้นที่ 6 ของการทดลองที่ 3.4 โดยสกัดหยาบและละเอียดด้วยเฮกเซน : อะซิโตน : เมทธานอล

ตารางผนวกที่ 1 ผลการทดสอบสารสกัดละเอียดด้วย Phytochemical method

สารที่ต้องการทดสอบ	การทดลองที่ 3.1						การทดลองที่ 3.2					การทดลองที่ 3.3					การทดลองที่ 3.4					
	ลำดับชั้น						ลำดับชั้น					ลำดับชั้น					ลำดับชั้น					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	6
อัลคาลอยด์																						
- Mayer’s	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
- Wagner’s	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
- Dragendoff’s	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
- Kedd’s	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
ซาโปนิน	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ฟลาโวนอยด์	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
เฟอริกคลอไรด์	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10% เจลาติน	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ พบ

- ไม่พบ

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวจีราภา เตียวสมบูรณ์กิจ
วัน เดือน ปี ที่เกิด	27 มีนาคม พ.ศ. 2525
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	ชั้นมัธยมศึกษาตอนต้นและตอนปลายจากโรงเรียน นวมินทราชินูทิศ หอวัง นนทบุรี จ.นนทบุรี พ.ศ. 2543 วท.บ. (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ พ.ศ. 2547
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	มูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย ในพระราชูปถัมภ์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี