# วิทยานิพนธ์

## ผลของการเสริมสังกะสีอินทรีย์ต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่และปริมาณสังกะสีในไข่แดง

## EFFECTS OF ORGANIC ZINC SUPPLEMENTATION ON LAYING PERFPRMANCE AND YOLK ZINC CONTENT

นางสาวอัจฉรา นิยมเดชา

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2551

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

# ผลของการเสริมสังกะสีอินทรีย์ต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ และปริมาณสังกะสีในไข่แดง

# Effects of Organic Zinc Supplementation on Laying Performance and Yolk Zinc Content


โดย

นางสาวอัจฉรา นิยมเดชา


เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โภชนศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์)
พ.ศ. 2551

# กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ยุวเรศ เรืองพานิช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสกสม อาตมางกูร ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรประพันธ์ ส่งเสริม และอาจารย์ ดร. สุกัญญา รัตนทับทิมทอง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม เป็นอย่างสูงที่กรุณาให้คำปรึกษาด้านการศึกษาและคำแนะนำในด้านการทดลองอย่างใกล้ชิด ตลอดจนการเขียนรายงานวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ และอาจารย์ที่กรุณาให้คำแนะนำและแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ บริษัทซิงโปร คอร์ปอเรชั่นที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัย ศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตสัตว์ปีก สถาบันสุวรรณวาจกกสิกิจฯ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการเลี้ยงสัตว์ทดลอง และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน ที่ให้คำปรึกษาแนะนำ และเอื้อเฟื้อสถานที่ในการวิเคราะห์อาหารสัตว์ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน ที่ให้คำแนะนำและเอื้อเฟื้อสถานที่ในการปฏิบัติการทางด้านภูมิคุ้มกัน ขอขอบคุณเพื่อนนิสิตปริญญาโทที่มีน้ำใจช่วยเหลือและสละเวลาในการปฏิบัติการทางภูมิคุ้มกัน

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อหลี และคุณแม่ฝีหยะ ที่ให้ความรัก กำลังใจและโอกาสในการศึกษาตลอดมา และเป็นแบบอย่างที่สอนให้รู้ถึงความพยายามและความอดทน คุณค่าและประโยชน์จากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแด่ บิดา มารดา ครู อาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่าน

อัจฉรา นิยมเดชา

มีนาคม 2551

# สารบัญ


| | หน้า |
|---|---|
| สารบัญ | (1) |
| สารบัญตาราง | (2) |
| สารบัญภาพ | (3) |
| คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ | (4) |
| คำนำ | 1 |
| วัตถุประสงค์ | 3 |
| การตรวจเอกสาร | 4 |
| อุปกรณ์และวิธีการ | 22 |
| อุปกรณ์ | 22 |
| วิธีการ | 26 |
| ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง | 33 |
| สรุปผลการทดลอง | 50 |
| ข้อเสนอแนะ | 51 |
| เอกสารและสิ่งอ้างอิง | 52 |
| ภาคผนวก | 59 |
| ประวัติการศึกษา | 83 |

# สารบัญตาราง


| ตารางที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 1 | ความต้องการสังกะสีของไก่พันธุ์ไข่ในช่วงเติบโต | 11 |
| 2 | ส่วนประกอบของอาหารพื้นฐานที่ใช้ในการทดลอง | 23 |
| 3 | ส่วนประกอบใน 1 กิโลกรัมของพรีมิกซ์ไวตามิน-แร่ธาตุสำหรับไก่ไข่ | 24 |
| 4 | องค์ประกอบทางโภชนะของอาหารที่ใช้ในการทดลอง (เปอร์เซ็นต์) | 34 |
| 5 | ปริมาณสังกะสีในสูตรอาหารทดลอง และปริมาณสังกะสีที่แม่ไก่ได้รับ | 35 |
| 6 | ผลของการเสริมแร่ธาตุสังกะสีอินทรีย์ ต่อปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวัน และอัตราการเลี้ยงรอด | 36 |
| 7 | ผลของการเสริมแร่ธาตุสังกะสีอินทรีย์ ต่ออัตราการให้ผลผลิตไข่ ต่อจำนวนแม่ไก่มีชีวิต และอัตราการให้ผลผลิตไข่ต่อจำนวนแม่ไก่เริ่มการทดลอง | 37 |
| 8 | ผลของการเสริมแร่ธาตุสังกะสีอินทรีย์ ต่อปริมาณอาหารที่กินต่อผลผลิตไข่ 1 โหล และมวลไข่เฉลี่ย | 38 |
| 9 | ผลของการเสริมแร่ธาตุสังกะสีอินทรีย์ ต่อน้ำหนักไข่เฉลี่ยและสีไข่แดง | 39 |
| 10 | ผลของการเสริมแร่ธาตุสังกะสีอินทรีย์ ต่อความสูงไข่ขาวและค่าฮอฟ์ยูนิต | 40 |
| 11 | ผลของการเสริมแร่ธาตุสังกะสีอินทรีย์ ต่อความถ่วงจำเพาะและความหนาเปลือกไข่ | 42 |
| 12 | ผลของการเสริมแร่ธาตุสังกะสีอินทรีย์ ต่อปริมาณแร่ธาตุสังกะสีในไข่แดง | 43 |
| 13 | ผลของการเสริมแร่ธาตุสังกะสีอินทรีย์ ต่อการทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์-ออกไซด์ ดิสมิวเตส | 45 |
| 14 | ผลของการเสริมแร่ธาตุสังกะสีอินทรีย์ ต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจง | 49 |

**ตารางผนวกที่**

| | | |
|---|---|---|
| 1 | ข้อมูลอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ภายในโรงเรือนตลอดการทดลอง | 62 |
| 2 | การเจือจาง standard สำหรับวิเคราะห์หาอิมมูโนโกลบูลิน M และอิมมูโนโกลบูลิน G | 81 |

# สารบัญภาพ


| ภาพที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 1 | การดูดซึมแร่ธาตุสังกะสีผ่านผนังลำไส้ | 5 |
| 2 | ปฏิกิริยาการกำจัดคาร์บอนไดออกไซด์โดยเอนไซม์คาร์บอนิก แอนไฮเดรส | 6 |
| 3 | การกำจัดอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์โดยเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส | 7 |
| 4 | ระบบสืบพันธุ์ของไก่เพศเมีย | 19 |

**ภาพผนวกที่**

| | | |
|---|---|---|
| 1 | กราฟแสดงอุณหภูมิเวลาเช้าและเวลาบ่ายภายในโรงเรือนระหว่างการทดลอง | 68 |
| 2 | กราฟแสดงความชื้นสัมพัทธ์ภายในโรงเรือนระหว่างการทดลอง | 69 |
| 3 | ระดับความเข้มข้นของน้ำเกลือที่ใช้ในการวิเคราะห์ค่าความถ่วงจำเพาะของไข่ โดยมีค่าตั้งแต่ 1.060, 1.064, 1.068, 1.072, 1.076, 1.080, 1.084, 1.088, 1.092, 1.096, 1.100 และ 1.104 | 69 |
| 4 | แสดงการใช้พัดสี (yolk color fan) สำหรับวัดความเข้มสีไข่แดง โดยมีสีเหลืองอ่อนถึงสีส้มแดง ตั้งแต่ 1-15 | 70 |
| 5 | แสดงวิธีการวัดความสูงของไข่ขาว | 70 |
| 6 | เครื่องไมโครมิเตอร์สำหรับวัดความหนาเปลือกไข่ | 71 |
| 7 | เครื่อง optical emission spectrometer (OES) รุ่น Optima 2000 DV | 73 |

# คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

| | |
|---|---|
| B cell | B lymphocyte |
| FSH | Follicle stimulating hormone |
| IgG | Immunoglobulin G |
| IgM | Immunoglobulin M |
| IL-1 | Interlukin-1 |
| IL-6 | Interlukin-6 |
| LH | Leuteinizing hormone |
| PBS | Phosphate buffer saline |
| SRBC | Sheep red blood cell |
| T cell | T lymphocyte |

# ผลของการเสริมสังกะสีอินทรีย์ต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ และปริมาณสังกะสีในไข่แดง

# Effects of Organic Zinc Supplementation on Laying Performance and Yolk Zinc Content

## คำนำ

สัตว์ปีกมีความต้องการแร่ธาตุสังกะสีเพื่อใช้ในกระบวนการทางชีวเคมีต่างๆ ภายในร่างกาย เนื่องจากแร่ธาตุสังกะสีเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของ metalloenzyme หลายชนิด เช่น DNA synthetase, RNA synthetase, DNA transferase, RNA transferase และเป็นองค์ประกอบของเอนไซม์หลายชนิดในระบบทางเดินอาหาร ดังนั้นแร่ธาตุสังกะสีจึงมีความสำคัญต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน นอกจากนี้แล้วแร่ธาตุสังกะสียังมีบทบาทสำคัญต่อระบบประสาท ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ระบบการต้านอนุมูลอิสระ และการแบ่งตัวในระดับเซลล์ของสัตว์ (พิสิฐ, 2547) สัตว์ปีกมีความต้องการแร่ธาตุสังกะสีเพื่อการเจริญเติบโต การพัฒนากระดูก การสร้างขน หากสัตว์ขาดแร่ธาตุสังกะสี จะแสดงอาการเบื่ออาหารและทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดลง อย่างไรก็ตาม แร่ธาตุสังกะสีในวัตถุดิบมีปริมาณน้อยและมีความแปรปรวนตามชนิดของวัตถุดิบ ประกอบกับวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ใช้มักมีสารขัดขวางการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ เช่น กรดไฟติก ทำให้การใช้ประโยชน์ได้ของแร่ธาตุสังกะสีลดต่ำลง (McDowell, 1992) จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องเสริมแร่ธาตุสังกะสีลงในอาหาร เพื่อให้สัตว์ปีกได้รับแร่ธาตุสังกะสีอย่างเพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย โดยแร่ธาตุสังกะสีที่ใช้เสริมในอาหารสัตว์โดยทั่วไปนั้นจะเสริมในรูปอนินทรีย์ คือ ZnO และ $ZnSO_4$ ซึ่งมีสังกะสีอยู่ 72% และ 36% ตามลำดับ โดยทั่วไปการเสริมสังกะสีในอาหารมักเสริมในรูปของ ZnO (80-90%) แต่สัตว์ปีกสามารถใช้ประโยชน์จากแร่ธาตุสังกะสีในรูปนี้ได้น้อยกว่าการเสริมแร่ธาตุสังกะสีในรูป $ZnSO_4$ อย่างไรก็ตาม สารประกอบซัลเฟตนั้นสามารถละลายน้ำได้ดี จึงสามารถทำปฏิกิริยากับโลหะที่มีประจุได้ ทำให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระขึ้น นอกจากนี้แล้วพบว่าแร่ธาตุอนินทรีย์สามารถแตกตัวเป็นไอออนอิสระในระบบทางเดินอาหารและสามารถทำปฏิกิริยากับสารประกอบอื่นๆ กลายเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่สัตว์ไม่สามารถดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ (Batal *et al.*, 2001)

ปัจจุบันจึงได้มีการพัฒนาและผลิตสังกะสีที่อยู่ในรูปสารอินทรีย์ เพื่อใช้เสริมในอาหารสัตว์ปีกร่วมกับการเสริมแร่ธาตุอนินทรีย์ในรูปของพรีมิกซ์ เพื่อเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของสังกะสีให้มากขึ้น อย่างไรก็ตาม การเสริมสังกะสีในอาหารไก่ไข่นั้น เพื่อต้องการหวังผลในด้านเพิ่มการได้รับสังกะสีให้แก่ตัวสัตว์เพื่อปรับปรุงสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ อีกทั้งยังหวังผลด้านการเพิ่มปริมาณสังกะสีในไข่แดง ซึ่งอาจเป็นการช่วยเพิ่มการได้รับสังกะสีให้แก่ผู้บริโภคอีกทางหนึ่งด้วย ดังนั้นการทดลองนี้จึงศึกษาเกี่ยวกับการใช้สังกะสีในรูปสารอินทรีย์ในระดับต่างๆ ต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่และปริมาณสังกะสีในไข่แดง

# วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของการเสริมสังกะสีอินทรีย์ในอาหารที่ระดับแตกต่างกัน ต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่และคุณภาพไข่

2. เพื่อศึกษาผลของการเสริมสังกะสีอินทรีย์ในอาหารที่ระดับแตกต่างกัน ต่อปริมาณสังกะสีในไข่แดง

3. เพื่อศึกษาผลของการเสริมสังกะสีอินทรีย์ในอาหารที่ระดับแตกต่างกัน ต่อการทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส

4. เพื่อศึกษาถึงผลของการเสริมสังกะสีในระดับที่แตกต่างกันในอาหารไก่ไข่ต่อการตอบสนองของแอนติบอดี้

# การตรวจเอกสาร

## ลักษณะทั่วไปของแร่ธาตุสังกะสี

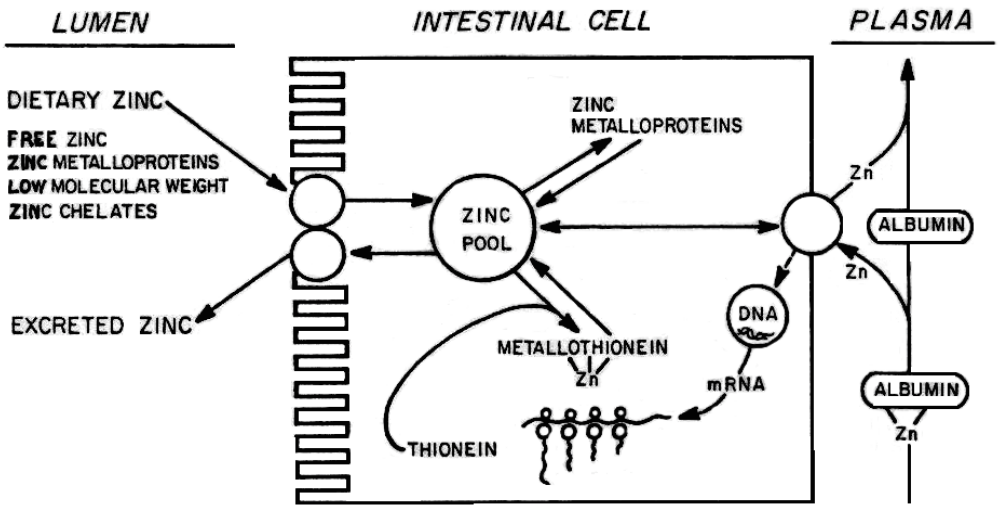
สังกะสี (Zn) เป็นแร่ธาตุที่พบปริมาณน้อยในร่างกายสัตว์ (trace element) แต่พบว่า มีบทบาทมากมายทั้งในด้านระบบประสาท ภูมิคุ้มกันของร่างกาย การป้องกันอนุมูลอิสระและการแบ่งตัวในระดับเซลล์ โดยแร่ธาตุสังกะสีจะช่วยชะลอการตายของเซลล์ตามธรรมชาติให้ช้าลง แร่ธาตุสังกะสีสามารถอยู่ในสภาพวาเลนซี่ที่แตกต่างกันได้หลายอย่าง แต่ในร่างกายปกติจะพบในสภาพไดวาเลนท์แคทไอออน ($Zn^{2+}$) (พรทิพย์, 2549)

Batal *et al.* (2001) รายงานว่า สังกะสีเป็นแร่ธาตุรองที่มีความจำเป็นสำหรับสัตว์ปีก สัตว์ปีกมีความต้องการสังกะสีเพื่อการเจริญเติบโต การพัฒนากระดูก การสร้างขน และเป็นองค์ประกอบของเอนไซม์ต่างๆ รวมทั้งมีความสำคัญต่อความอยากกินอาหารของสัตว์ปีก Sahin *et al*. (2005) รายงานว่า ปัจจุบันสังกะสีที่ใช้เสริมในอาหารสัตว์ได้จาก 2 แหล่ง คือ ZnO และ $ZnSO_4$ซึ่งมีสังกะสีอยู่ 72% และ 36% ตามลำดับ โดยทั่วไปการเสริมสังกะสีในอาหารมักเสริมในรูปของ ZnO (80-90%) แต่สัตว์ปีกสามารถใช้ประโยชน์จากสังกะสีในรูปนี้ได้น้อยกว่าการเสริมสังกะสีในรูป $ZnSO_4$ อย่างไรก็ตาม สารประกอบซัลเฟตนั้นสามารถละลายน้ำได้ดี จึงสามารถทำปฏิกิริยากับโลหะที่มีประจุได้ ทำให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระขึ้น การเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวนำไปสู่การเกิดการสลายตัวของวิตามินและไขมัน ทำให้การใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะลดลง

## การดูดซึมแร่ธาตุสังกะสี

McDowell (1992) รายงานว่า ขั้นตอนการดูดซึมสังกะสีเกิดขึ้นภายหลังจากการย่อยโดยการขนส่งสังกะสีจากท่อลำไส้ (lumen) เข้าสู่เซลล์ของลำไส้ (mucosal cell) โดยกระบวนการที่ต้องอาศัยตัวพา คือลิแกนด์ (อะตอมหรือกลุ่มอะตอมที่เข้ามาสร้างพันธะกับสังกะสี) ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำหลายชนิดช่วยให้มีการดูดซึมสังกะสีได้เพิ่มขึ้น เช่น ซิเตรท (citrate) พิโคลิเนท (picolinate) รวมทั้งกรดอะมิโน เช่น ฮิสติดีน (histidine) และกรดกลูตามิค (glutamic acid) ภายในเซลล์ของลำไส้เล็กนั้นมีเมตัลโลไธโอนีน (metallothionein) ซึ่งเป็นโปรตีนที่ช่วยในการควบคุมการขนส่งสังกะสีเข้าไปภายในกระแสเลือด ซึ่งกลไกในการควบคุมการส่งผ่านแร่ธาตุสังกะสีผ่านเซลล์ของลำไส้เล็กดังแสดงในภาพที่ 1 อย่างไรก็ตาม ความสามารถในการดูดซึมสังกะสีขึ้นอยู่กับปัจจัยหลาย

อย่าง เช่น สภาวะของสังกะสีในร่างกาย สภาพทางสรีรวิทยาของสัตว์ อายุ สุขภาพ พันธุกรรมของสัตว์ ความต้องการทางสรีรวิทยาของสัตว์และองค์ประกอบของอาหาร




**ภาพที่ 1** การดูดซึมแร่ธาตุสังกะสีผ่านผนังลำไส้

**ที่มา :** Church and Pond (1988)

**การขนส่งแร่ธาตุสังกะสี**

สังกะสีที่ดูดซึมผ่านเข้าไปในเซลล์ผนังลำไส้ (enterocyte) อาจถูกใช้ภายในเซลล์หรืออยู่ในเซลล์โดยจับกับ metallothionein หรือผ่านผนังเซลล์ด้านใน (basolateral membrane) เข้าไปในพลาสม่าประมาณ 90% ของสังกะสีที่เข้าไปในพลาสม่าจะถูกขนส่งโดยอัลบูมิน ส่วนที่เหลือจะถูกขนส่งโดยแอลฟ่า-2-มาโครโกลบูลิน ทรานสเฟอริน อิมมูโนโกลบูลิน ซีสเตอีนและฮีสติดีนสังกะสีที่จับกับโปรตีนตัวพาจะถูกส่งไปยังตับ จากนั้นจะถูกส่งไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ (Hill and Spears, 2000)

**การกระจายตัวของแร่ธาตุสังกะสี**

สังกะสีเป็นแร่ธาตุประจุบวกที่กระจายตัวอยู่ทั่วร่างกายในอวัยวะและเนื้อเยื่อทุกชนิด รวมทั้งของเหลวในร่างกาย สังกะสีทั้งหมดในร่างกายมีความเข้มข้นประมาณ 30 มก./กก. โดยมีความเข้มข้นสูงในเนื้อเยื่อที่ห่อหุ้มร่างกาย (integument tissue) เช่น ผิวหนัง ขน เล็บ (McDowell, 1992) ส่วนสังกะสีในเลือดจะแบ่งเป็นสองส่วนคือ ในเซลล์เม็ดเลือดแดงและในพลาสม่าในอัตราส่วน 9:1 สังกะสีที่อยู่ในเม็ดเลือดแดงเป็นองค์ประกอบของเอนไซม์คาร์บอนิค แอนไฮเดรส (carbonic anhydrase) และซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (superoxide dismutase) ส่วนสังกะสีในพลาสม่าจะจับกับอัลบูมินและโกลบูลิน ซึ่งเป็นรูปแบบของการขนส่งสังกะสีไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ ของร่างกาย (Pond *et al.,* 1995)

**หน้าที่ของแร่ธาตุสังกะสี**

สังกะสีมีบทบาทมากมายในร่างกายทั้งในด้านระบบประสาท ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย และการป้องกันอนุมูลอิสระ การได้รับสังกะสีในปริมาณสูงเป็นเวลานานๆ อาจก่อให้เกิดความผิดปกติในระบบภูมิคุ้มกันและความผิดปกติของไขมันในร่างกายได้ แร่ธาตุสังกะสีมีความสำคัญต่อการดูดซึมและการปฏิบัติหน้าที่ของวิตามินโดยเฉพาะวิตามินบีรวม รวมทั้งเป็นส่วนประกอบของน้ำย่อยไม่น้อยกว่า 25 ชนิด ซึ่งช่วยในการย่อยและการเผาผลาญสารอาหาร โดยเฉพาะการย่อยคาร์โบไฮเดรตและการเผาผลาญฟอสฟอรัส มีส่วนร่วมในกระบวนการทำงานของเซลล์ต่างๆ ในร่างกาย (พรทิพย์, 2549) หน้าที่ของสังกะสีอาจจำแนกได้ดังนี้

1. เป็นโคแฟคเตอร์ (cofactor) ของเอนไซม์ เช่น เอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิกและโปรตีน (Axe, 1997) เช่น DNA polymerase, thimidine kinase, DNA-dependent RNA polymerase, deoxyribonucleotidyl transferase และ aminoacyl tRNA synthetase (Zalewski, 1996) เอนไซม์หลายชนิดมีสังกะสีเป็นโคแฟคเตอร์ที่รู้จักกันดี คือ เอนไซม์คาร์โบนิค แอนไฮเดรส ซึ่งพบมากในเม็ดเลือดแดงมีบทบาทในการกำจัดคาร์บอนไดออกไซด์ (ภาพที่ 2)

$$CO_2 + H_2O \xrightarrow{\text{carbonic anhydrase}} H_2CO_3 \xrightarrow{\text{dissociation}} HCO_3^- + H^+$$

**ภาพที่ 2** ปฏิกิริยาการกำจัดคาร์บอนไดออกไซด์โดยเอนไซม์คาร์บอนิก แอนไฮเดรส
**ที่มา:** Pocker and Janjic (1988)

$H^+$ ที่ปล่อยจากกรดคาร์โบนิคจะไปรีดิวซ์ออกซี่ฮีโมโกลบิน (oxyhemoglobin) ให้ปล่อยออกซิเจนให้เนื้อเยื่อ ส่วนไบคาร์โบเนต ($HCO_3^-$) จะผ่านออกไปยังพลาสม่าและเข้ามามีส่วนร่วมในปฏิกิริยาการปรับสมดุลกรด-ด่าง Pocker and Janjic (1988) มีรายงานว่า สังกะสีเป็นองค์ประกอบของเอนไซม์คาร์บอนิค แอนไฮเดรส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการนำคาร์บอเนต ไอออนไปสะสมที่เปลือกไข่ หากขาดสังกะสีจะส่งผลให้เอนไซม์นี้ถูกยับยั้งการทำงาน จึงส่งผลให้การนำคาร์บอเนต ไอออนไปสะสมที่เปลือกไข่เกิดได้ลดลง ส่งผลให้น้ำหนักเปลือกไข่ลดลง (Nys et al., 1999)

เอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (alkaline phosphatase) ประกอบด้วยสังกะสี 4 อะตอม เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทในการไฮโดรไลซ์ (hydrolyse) โมโนเอสเทอร์ของฟอสเฟทจากสารประกอบชนิดต่างๆ และเกี่ยวข้องในเมแทบอลิซึมของกระดูก บางครั้งปริมาณของเอนไซม์ชนิดนี้จะเป็นดัชนีบ่งชี้สภาวะของสังกะสีในร่างกาย เพราะการทำงานของเอนไซม์นี้จะลดลงเมื่อร่างกายขาดสังกะสี แต่การทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้ไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นดัชนีบ่งชี้สภาวะการเปลี่ยนแปลงของสังกะสีในร่างกาย เนื่องจากมีปัจจัยหลายอย่างที่มีผลกระทบต่อการทำงาน เช่น การอดอาหารอายุของสัตว์ เวลาที่เก็บซีรั่ม และชนิดของเนื้อเยื่อที่เก็บตัวอย่าง เป็นต้น

เอนไซม์อีกชนิดหนึ่งที่มีสังกะสีเป็นโคแฟคเตอร์ คือเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (superoxide dismutase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่พบในไซโตพลาสซึมของเซลล์โดยมีสังกะสี 2 อะตอม และทองแดง 2 อะตอมเป็นองค์ประกอบ มีหน้าที่ในการเปลี่ยนอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน ($O_2^-$) ไปเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$) และออกซิเจน ($O_2$) จากนั้นเอนไซม์คาตาเลสและรีดิวซ์กลูตาไธโอน (GSH) จะเปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไปเป็นน้ำ แสดงดังภาพที่ 3 (Nicholls and Budd, 2000)

$$2O_2^- + 2H^+ \xrightarrow{\text{superoxide dismutase}} H_2O_2 + O_2$$

**ภาพที่ 3** การกำจัดอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์โดยเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส
**ที่มา:** Nicholls and Budd (2000)

2. ภูมิคุ้มกันและความต้านทานโรค

สุทธิพันธ์ (2541) กล่าวว่า ภูมิคุ้มกัน (immune) หมายถึง กลไกตามธรรมชาติที่ทำให้ร่างกายสามารถจำสิ่งแปลกปลอมได้และพยายามกำจัดสิ่งแปลกปลอมนั้นด้วยวิธีการต่างๆ โดยหน้าที่ของระบบภูมิคุ้มกันแบ่งได้เป็น 3 อย่าง คือ เพื่อป้องกันร่างกายและเพิ่มความต้านทานของร่างกายต่อสิ่งแปลกปลอมภายนอกที่เข้าสู่ร่างกาย เพื่อกำจัดเซลล์ปกติของร่างกายที่หมดอายุ และเพื่อคอยกำจัดเซลล์ที่มีการเปลี่ยนแปลงผิดไปจากปกติ กิติ (2527) แบ่งการป้องกันร่างกายออกเป็น 2 ชนิด คือ

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

2. ระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจง (specific immunity) เป็นภูมิคุ้มกันชนิดที่ต้องใช้เวลาประมาณ 4-5 วัน แต่มีความจำเพาะต่อเชื้อโรคสูง แบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ

2.1 Humoral immunity คือแอนติบอดีที่ร่างกายสร้างขึ้นเพื่อทำการต่อต้านสิ่งแปลกปลอม Tizard (2004) กล่าวว่า แอนติบอดี ผลิตจาก B-cell lymphocyte เรียกว่า อิมมูโนโกลบูลิน (Ig) ประกอบไปด้วย Ig 5 ชนิด คือ IgA, IgG, IgM, IgD และ IgE โดยพบว่าในไก่กระทงประกอบไปด้วย Ig 3 ชนิด คือ IgA, IgG และ IgM (สุทธิพันธ์, 2541)

2.2 Cell-mediated immunity (CMI) เป็นระบบภูมิคุ้มกันที่สร้างขึ้นภายในเซลล์น้ำเหลือง ทำให้เซลล์เหล่านี้มีความสามารถในการต่อต้านสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย เซลล์ที่มีบทบาทนี้คือ T cell lymphocyte (T-cell) เมื่อ T-cell lymphocyte ถูกกระตุ้นด้วยแอนติเจนแล้วจะมี cytotoxic T lymphocyte ซึ่งสามารถกำจัดแอนติเจนที่เข้าสู่ร่างกาย จากนั้น T-cell lymphocyte จำนวนหนึ่งจะกลายเป็น memory cell ซึ่งสามารถจดจำแอนติเจนชนิดนั้นๆ ได้ และเมื่อแอนติเจนชนิดนี้เข้าสู่ร่างกายอีกครั้ง T-cell lymphocyte จะสามารถตอบสนองต่อการกระตุ้นได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพมากกว่าเมื่อเทียบกับการพบกับแอนติเจนนั้นๆ ในครั้งแรก (องอาจ, 2542; Abbas and Lichtman, 2003)

3. การเจริญเติบโต

สังกะสีมีความจำเป็นในการสังเคราะห์เนื้อเยื่อและโปรตีนโดยทำหน้าที่เป็นโคแฟคเตอร์ (cofactor) ของเอนไซม์หลายชนิดที่เกี่ยวข้องในกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน ประกอบด้วย DNA polymerase, RNA polymerase, deoxythymidine kinase, deoxynucleotidyl transferase, nucleoside phosphorylase และ reverse transcriptase (Axe, 1997) สังกะสีเป็นแร่ธาตุที่จำเป็นต่อเอนไซม์ของร่างกายมากกว่า 70 ชนิด บทบาทของสังกะสีที่สำคัญที่สุด คือ มีส่วนร่วมในกระบวนการสังเคราะห์และกระบวนการเมแทบอลิซึมของ RNA และ DNA ซึ่งช่วยควบคุมกระบวนการถอดรหัส (transcription process) ที่จำเป็นสำหรับการสร้างเซลล์ การแบ่งตัวในระดับเซลล์ การซ่อมแซมเซลล์ และการเจริญเติบโตของเซลล์ เมื่อสัตว์ขาดสังกะสีจะทำให้การเจริญเติบโตลดลง (Hill and Spears, 2000)

4. สังกะสีเป็นองค์ประกอบของฮอร์โมนอินซูลินที่ผลิตโดยตับอ่อน มีหน้าที่ในการควบคุมปริมาณกลูโคสในเลือด โดยแต่ละโมเลกุลของอินซูลินมีแร่ธาตุสังกะสีเป็นองค์ประกอบอยู่ 2-4 อะตอม (Brody, 1994)

**ความต้องการแร่ธาตุสังกะสีในไก่ไข่**

ความต้องการสังกะสีของสัตว์แปรผันตามชนิด อายุ การให้ผลผลิต สุขภาพ สภาพทางสรีรวิทยาของสัตว์ และปัจจัยด้านสภาพแวดล้อม (McDowell, 1992) ความต้องการสังกะสีของสัตว์ยังขึ้นอยู่กับระดับของแคลเซี่ยมในอาหาร แหล่งวัตถุดิบและปัจจัยอื่นๆ เช่น กรดไฟติก เยื่อใย สามารถลดการดูดซึมสังกะสีที่ลำไส้เล็กได้ การเสริมสังกะสีโดยทั่วไปใช้สังกะสีจากแหล่งอนินทรีย์ (inorganic) คือ ZnO และ $ZnSO_4$ เมื่อสังกะสีรูปแบบดังกล่าวผ่านไปที่กระเพาะและลำไส้เล็กจะเกิดการแตกตัวเป็นไอออนอิสระที่สามารถทำปฏิกิริยากับแร่ธาตุตัวอื่นๆ หรือกรดไฟติก เกิดเป็นสารประกอบที่ตกตะกอนไม่ละลาย ทำให้สัตว์สามารถดูดซึมสังกะสีไปใช้ประโยชน์ลดลง ส่วนที่เหลือจะถูกขับออกทางมูล อีกทั้งสังกะสีในรูปอนินทรีย์นั้นมีค่าการใช้ประโยชน์ได้ที่มีความผันแปรค่อนข้างสูง ดังนั้นระดับที่เสริมลงในอาหารสัตว์จึงมักสูงกว่าความต้องการที่มีการแนะนำไว้ ทั้งนี้เพื่อให้สัตว์ได้รับในปริมาณที่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกายอย่างแท้จริง (NRC, 1998) Underwood (1981) รายงานว่า ระดับความต้องการสังกะสีเพื่อการเจริญเติบโตในไก่ที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วเหลืองเป็นองค์ประกอบจะอยู่ในช่วง 35-40 มก./กก ในขณะที่สูตรอาหารที่ใช้แหล่งโปรตีนจากสัตว์ มีความต้องการสังกะสีเพียง 30-35 มก./กก ในไก่ไข่มีความต้องการสังกะสี

แตกต่างจากไก่เนื้อ โดยไก่ไข่ในระยะให้ไข่มีความต้องการสังกะสี 50 มก./กก. ในขณะที่ไก่อยู่ในช่วงการผสมพันธุ์มีความต้องการสังกะสีสูงถึง 65 มก./กก Batal *et al*. (2001) รายงานว่า ความต้องการสังกะสีของไก่ช่วงอายุ 1-3 สัปดาห์ ซึ่งได้รับอาหารพื้นฐานเป็นข้าวโพดและกากถั่วเหลืองนั้น มีค่าประมาณ 22.4 มก./กก.ของอาหาร โดยสังกะสีที่เสริมนั้นอยู่ในรูปของ $ZnSO_4.7H_2O$ มีรายงานเพิ่มว่า ความต้องการสังกะสีของไก่ไข่พันธุ์เปลือกไข่สีขาวที่อายุ 0-6 สัปดาห์คือ 40 มก./กก. ของอาหาร ที่อายุ 6-12 สัปดาห์คือ 35 มก./กก.ของอาหาร ที่อายุ 12-18 สัปดาห์คือ 35 มก./กก.ของอาหาร ที่อายุ 18-ช่วงอายุการให้ไข่คือ 35 มก./กก.ของอาหาร ขณะที่ความต้องการสังกะสีของไก่ไข่พันธุ์เปลือกไข่สีน้ำตาลที่อายุ 0-6 สัปดาห์คือ 38 มก./กก.ของอาหาร ที่อายุ 6-12 สัปดาห์คือ 33 มก./กก.ของอาหาร ที่อายุ 12-18 สัปดาห์คือ 33 มก./กก.ของอาหาร ที่อายุ 18-ช่วงอายุการให้ไข่คือ 33 มก./กก.ของอาหาร (ตารางที่ 1 ) (NRC, 1994)

**ตารางที่ 1** ความต้องการสังกะสีของไก่พันธุ์ไข่ในช่วงเติบโต

| อายุ (สัปดาห์) | พันธุ์เปลือกไข่สีขาว | | | | พันธุ์เปลือกไข่สีน้ำตาล | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0-6 | 6-12 | 12-18 | 18-ช่วงอายุการให้ไข่ | 0-6 | 6-12 | 12-18 | 18-ช่วงอายุการให้ไข่ |
| นน.สุดท้าย (กรัม) | 450 | 980 | 1,375 | 1,475 | 500 | 1,100 | 1,500 | 1,600 |
| พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (kcal/kg) | 2,500 | 2,850 | 2,900 | 2,900 | 2,800 | 2,800 | 2,850 | 2,850 |
| สังกะสี (มก./กก) | 40.0 | 35.0 | 35.0 | 35.0 | 38.0 | 33.0 | 33.0 | 33.0 |

**ที่มา:** NRC (1994)

**การขาดแร่ธาตุสังกะสี**

การขาดสังกะสีอาจสังเกตอาการตามที่มองเห็นหรือโดยการตรวจวัดปริมาณสังกะสีในเลือด และเอนไซม์ชนิดหนึ่งซึ่งมีอยู่ในเลือดเรียกว่า แอลคาไลน์ฟอสฟาเทส ซึ่งต้องอาศัยสังกะสีจึงทำงานได้ และเอนไซม์นี้อาจใช้เป็นดัชนีชี้วัดภาวะของสังกะสีในร่างกายได้ (พิสิฐ, 2547) การขาดสังกะสีทำให้ลำไส้ดูดซึมสารอาหารได้ช้าลง สัตว์โตช้าลง (พันทิพา, 2543) ส่งผลให้เกิดสภาวะการขาดโกนาโดโทรปิน (hypogonadism) ซึ่งสัตว์จะมีขนาดอัณฑะเล็กลงและมีการผลิตอสุจิลดลง (Church and Pond, 1988) การขาดสังกะสีในสัตว์ปีก ทำให้อัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนอาหารและอัตราการให้ผลผลิตไข่ลดลง ทำให้การพัฒนาหงอนและสีหงอนของไก่เกิดได้ช้าลง (Scott *et al*., 1982)

Shankar and Prasad (1998) รายงานว่า การขาดสังกะสีในสัตว์และมนุษย์ทำให้การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันลดลง ทำให้ต่อมไทมัสหดตัว (thymic involution) และเกิดการฝ่อทันทีอย่างเห็นได้ชัด Kidd *et al*. (1996) รายงานว่า การขาดสังกะสีทำให้สัตว์ไม่อยากกินอาหาร การเจริญเติบโตลดลง เนื่องจากสังกะสีเป็นองค์ประกอบของ gustin ซึ่งเป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการรับรู้รส

**อาการเป็นพิษของแร่ธาตุสังกะสี**

อาการเป็นพิษของสังกะสีมักไม่ใช่ปัญหาที่เกิดขึ้นบ่อยในการผลิตสัตว์ แต่มีรายงานว่าการให้สังกะสีที่ระดับ 3,000 มก./กก. จะทำให้ความอยากกินอาหาร ประสิทธิภาพการใช้อาหารและอัตราการเจริญเติบโตลดลง ในไก่เนื้อและไก่ไข่มีความสามารถในการทนต่อการได้รับสังกะสีที่มีในอาหารได้ที่ระดับ 1200-1400 มก./กก. หากเกินระดับนี้ไก่ไข่ไม่สามารถทนได้ (Underwood, 1981) นอกจากนี้ การได้รับแร่ธาตุสังกะสีในปริมาณสูงมากๆ อาจทำให้เกิดโลหิตจางได้ เนื่องจากสังกะสีมีผลไปขัดขวางการดูดซึมแร่ธาตุทองแดง (Cu) และเหล็ก (Fe) (Pond *et al*., 1995)

**แร่ธาตุอินทรีย์**

Scott *et al*. (1971) อธิบายว่า แร่ธาตุรูปอินทรีย์ หมายถึง แร่ธาตุ (โลหะทรานซิชั่น) ที่จับกับสารอินทรีย์ เช่น กรดอะมิโน หรือเปปไทด์ หรืออาจเรียกว่า organic chelate ซึ่งหมายถึงการจับกับสารอินทรีย์ มีโครงสร้างแบบวงแหวน ที่เกิดขึ้นโดยการจับกันระหว่างประจุบวกของแร่ธาตุ (cations) กับสารประกอบที่มีประจุลบสูงตั้งแต่ 2 ตำแหน่งด้วยพันธะโคออดิเนท คำว่า chelate มาจากคำว่า chele ในภาษากรีกที่หมายถึงก้ามปู (claw) เป็นคำอธิบายถึงลักษณะการจับกันของแร่ธาตุประจุบวกกับสารที่จับกับโลหะ (metal binding agents) ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ที่เรียกว่า ลิแกนด์ (ligand) หรืออาจอธิบายได้ว่า โลหะทรานซิชั่น หมายถึง อะตอมหรือไอออนที่มีอิเลคตรอนใน d- หรือ f- ออร์บิตอลไม่เต็มจึงแสดงเลขออกซิเดชั่นได้หลายค่า (ส่วนมากเป็น +2) และมีแนวโน้มที่จะเกิดสารประกอบเชิงซ้อน (complex หรือ coordinate compound) ได้ง่าย ส่วนลิแกนด์ หมายถึง อะตอมหรือกลุ่มอะตอมที่เข้ามาสร้างพันธะกับโลหะทรานซิชั่น ในลิแกนด์มีอะตอมที่มีคู่อิเลคตรอนโดดเดี่ยวซึ่งสามารถสร้างพันธะโคออดิเนทโควาเลนท์กับไอออนโลหะได้ เรียกอะตอมนั้นว่า donor atom ลิแกนด์ที่มี donor atom 1 อะตอม ต่อ 1 กลุ่มลิแกนด์เรียกว่า monodentate ligands ส่วนลิแกนด์ที่มี donor atom มากกว่า 1 อะตอม ต่อ 1 กลุ่มลิแกนด์โดยอะตอมเหล่านี้สามารถสร้างพันธะกับไอออนโลหะได้พร้อมๆ กันเรียกว่า polydentate ligands ซึ่งจะทำให้เกิดสารเชิงซ้อนแบบเป็นวงหรือ cyclic ring ที่เรียกว่า คีเลท (chelates)

คีเลทที่รู้จักกันดีในระบบชีวภาพ มี 3 ชนิด คือ

1. คีเลทที่ใช้ขนส่งและเก็บไอออนโลหะ คีเลทชนิดนี้ไม่มีหน้าที่เฉพาะของตัวเองไม่มีการปรับเปลี่ยนคุณสมบัติของลิแกนด์ แต่ต้องการลิแกนด์ที่มีคุณสมบัติที่สามารถจับเป็นคีเลททำให้สามารถดูดซึมผ่านเข้าไปในกระแสเลือดและส่งเข้าไปที่ตำแหน่งที่ต้องการได้ เช่น

1.1 กรดอะมิโนโดยเฉพาะซิสเตอิน (cysteine) และฮิสตีดีน (histidine) ที่จับกับไอออนโลหะได้เป็นอย่างดี มีความสำคัญในการขนส่งและเก็บแร่ธาตุในร่างกายสัตว์

1.2 Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) เป็นลิแกนด์สังเคราะห์ที่เพิ่มการใช้ประโยชน์ของแร่ธาตุและใช้ในทางการแพทย์เพื่อกำจัดพิษโลหะหนัก

2. คีเลทที่มีความสำคัญในเมแทบอลิซึม ไอออนของโลหะหลายชนิดในร่างกายต้องอยู่ในโครงสร้างของคีเลทเพื่อให้สามารถทำหน้าที่ในเมแทบอลิซึมปกติได้ เช่น ฮีโมโกลบิน (haemoglobin) ไซโตโครม เอนไซม์ (cytocrome enzyme) และวิตามิน บี 12

3. คีเลทที่ขัดขวางการใช้ประโยชน์ของแร่ธาตุเช่น phytic acid chelate ที่สามารถจับกับแร่ธาตุประจุบวกได้หลายตัวทำให้อยู่ในรูปที่ไม่สามารถใช้ประโยชน์ได้

แร่ธาตุอินทรีย์หรือคีเลทที่มีการผลิตหรือใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์มีหลายชนิด AAFCO (Association of American Feed Control Officials) (1997) ได้ให้คำจำกัดความแร่ธาตุอินทรีย์ชนิดต่างๆ ไว้ดังนี้

1. Metal amino acid complex หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการรวมตัวกันเป็นสารประกอบ (complexing) ระหว่างเกลือโลหะที่ละลายได้ (soluble metal salt) กับกรดอะมิโนโดยมีอัตราส่วนของโมเลกุลโลหะต่อกรดอะมิโนเท่ากับ 1:1 และต้องระบุปริมาณต่ำสุดของโลหะที่ประกอบอยู่และระบุให้ชัดเจนว่าเป็นสารประกอบชนิดใด เช่น ซิงค์อะมิโนแอซิดคอมเพล็กซ์ (zinc amino acid complex) หรือ คอปเปอร์อะมิโนแอซิดคอมเพล็กซ์ (copper amino acid complex) เป็นต้น

2. Metal amino acid chelate หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยา (reaction) ของไอออน (metal ion) จากเกลือโลหะที่ละลายได้กับกรดอะมิโน ในอัตราส่วนของโมเลกุลโลหะต่อกรดอะมิโนเท่ากับ 1:1-3 (ส่วนมากเป็น 1:2) สร้างพันธะโคออดิเนทโควาเลนท์ (coordinate covalent bonds) โดยกรดอะมิโนนั้นต้องมีน้ำหนักไม่เกิน 150 ดาลตัน และคีเลทที่เกิดขึ้นต้องมีน้ำหนักไม่เกิน 800 ดาลตัน และต้องระบุปริมาณต่ำสุดของโลหะที่ประกอบอยู่และสามารถบอกได้ชัดเจนว่าเป็นคีเลทชนิดใด เช่น แมกนีเซียมอะมิโนแอซิดคีเลท (magnesium amino acid chelate) และซิงค์อะมิโนแอซิดคีเลท (zinc amino acid chelate) เป็นต้น

3. Metal proteinate หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการจับกันแบบคีเลท (chelation) ของเกลือโลหะที่ละลายได้กับกรดอะมิโนหรือไฮโดรไลซ์โปรตีน (hydrolyzed protein) และจะต้องระบุองค์ประกอบที่จำเพาะของโลหะโปรตีเนทว่าเป็นชนิดใด เช่น คอปเปอร์โปรตีเนท ซิงค์โปรตีเนท แมกนีเซียมโปรตีเนท เป็นต้น

4. Metal polysaccharide complex หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการรวมตัวกันเป็นสารประกอบ (complexing) ของเกลือที่ละลายได้กับโพลี่แซคคาไรด์ (polysaccharide solution)

**บทบาทของแร่ธาตุอินทรีย์**

การพัฒนาการผลิตแร่ธาตุอินทรีย์จะยึดถือทฤษฎีว่า หากคีเลทมีความเสถียรในทางเดินอาหารจะไม่สร้างพันธะกับองค์ประกอบอื่นๆ ทำให้แร่ธาตุอินทรีย์มีการดูดซึมได้ดีขึ้น โดยแร่ธาตุอินทรีย์จะถูกดูดซึมในรูปเดิมหรือสามารถปรับรูปแบบทางเคมีให้สามารถดูดซึมได้ดีขึ้น แร่ธาตุที่อยู่ในร่างกายจะทำหน้าที่ได้ดีนั้นต้องอยู่ในรูปสารประกอบอินทรีย์หรือคีเลท จะไม่อยู่ในรูปไอออนอิสระ ดังนั้นการสร้างแร่ธาตุอินทรีย์ขึ้นจึงถือเป็นการเลียนแบบธรรมชาติ (Spears, 1996)

**แร่ธาตุอนินทรีย์**

สาโรช (2547) อธิบายว่า แร่ธาตุที่อยู่ในรูปเกลืออนินทรีย์โดยเฉพาะแร่ธาตุปลีกย่อยสัตว์นำไปใช้ประโยชน์ได้ต่ำเนื่องจาก

1. เกลืออนินทรีย์แต่ละชนิดของแร่ธาตุละลายในทางเดินอาหารไม่เท่ากัน ทำให้แร่ธาตุถูกดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ไม่เท่ากัน อีกประการหนึ่งคือ แร่ธาตุแต่ละชนิดจะสามารถถูกดูดซึมและนำไปใช้ประโยชน์ได้ไม่เท่ากัน

2. เกลืออนินทรีย์เมื่อละลายจะแตกตัวให้แร่ธาตุอิออนบวก อิออนของแร่ธาตุโดยเฉพาะอิออนของแร่ธาตุปลีกย่อยในกลุ่ม transition series ใน periodic table ซึ่งไม่ค่อยเสถียรมีพลังงานสูงและไวในการเข้าทำปฏิกิริยา จะทำปฏิกิริยากับอณูอื่นในการเกิดเป็นเกลือหรือสารประกอบเชิงซ้อนชนิดใหม่ ซึ่งบางชนิดอาจทำให้แร่ธาตุถูกดูดซึมได้ง่าย และอีกบางชนิดอาจไม่ละลาย แร่ธาตุไม่ถูกดูดซึม จึงเป็นผลให้แร่ธาตุซึ่งอยู่ในเกลือที่ละลายได้ถูกดูดซึมและเป็นประโยชน์ต่อสัตว์ได้น้อยลง

3. ปฏิสัมพันธ์ (interrelationship) ระหว่างแร่ธาตุกับแร่ธาตุหรือกับส่วนประกอบอื่นในอาหาร การใช้ประโยชน์ของแร่ธาตุในอาหารนั้นไม่ได้เป็นอิสระจากปัจจัยแวดล้อมและส่วนประกอบของอาหาร เช่น เยื่อใย ซึ่งมีกรดไฟติกเป็นส่วนประกอบจะจับกับแร่ธาตุบางชนิด เช่น สังกะสี เกิดเป็นคีเลท Zn-phytate ที่สัตว์กระเพาะเดี่ยวย่อยไม่ได้ ทำให้อัตราการใช้ประโยชน์ได้ของทั้งสังกะสีและฟอสฟอรัสลดลง เยื่อใยในอาหาร silicates หรือ calcium phosphates อาจดูดซับแร่ธาตุและขัดขวางการใช้ประโยชน์ในร่างกายสัตว์

**การใช้แร่ธาตุสังกะสีในสัตว์ปีก**

Kidd *et al*. (1992) ทำการทดลองเสริมสังกะสีในอาหารไก่เนื้อในรูป ZnO ที่ระดับ 40 มก./กก.อาหาร และเสริมสังกะสีในรูป Zn-Methionine ที่ระดับ 140 มก./กก.อาหาร พบว่าน้ำหนักตัว และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารของไก่เนื้อทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) สอดคล้องกับงานทดลองของ Bartlett and Smith (2003) ที่ทำการทดลองในไก่เนื้อพันธุ์อาเบอร์เอเคอร์ (Arbor Acres) โดยให้ได้รับอาหารที่มีสังกะสีแตกต่างกัน 3 ระดับ คือ ระดับต่ำ (34 มก./กก.)

ระดับที่เพียงพอต่อความต้องการ (68 มก./กก.) และระดับสูง (181 มก./กก.) พบว่าระดับของสังกะสีไม่มีผลต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของไก่เนื้อที่อายุ 7 สัปดาห์

Greater *et al*. (1996) รายงานว่า การเลี้ยงไก่ในสภาพแวดล้อมที่เป็นโรงเรือนเปิดอุณหภูมิสูง 32°C ด้วยอาหารเสริมแร่ธาตุสังกะสี ส่งผลให้น้ำหนักตัวของไก่ที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์ ลดลง 14% และ 24% ตามลำดับ เนื่องจากประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร และการใช้ประโยชน์ได้ของสารอาหารลดลง นอกจากนี้พบว่า การเสริมสังกะสีในอาหารให้สูงขึ้นไม่มีผลในการช่วยปรับปรุงสมรรถภาพการผลิตแต่อย่างใด

อย่างไรก็ตาม Sahin *et al*. (2005) ทำการทดลองเปรียบเทียบเสริมสังกะสีจากแหล่งอินทรีย์และอนินทรีย์เพื่อปรับปรุงสมรรถภาพการผลิตของนกกระทาพันธุ์ *Coturnix coturnix Japonica* ภายใต้สภาวะความเครียดจากความร้อน พบว่าการเสริมสังกะสีในรูป $ZnSO_4.H_2O$ หรือ ZnPicolinate ในระดับต่างกัน 3 ระ ดับ (0, 30 และ 60 มก./กก.อาหาร) ที่อุณหภูมิสุขสบายไม่มีผลช่วยปรับปรุงสมรรถภาพการผลิต ขณะที่การเสริมสังกะสีภายใต้สภาวะความเครียดจากความร้อนสามารถช่วยในการปรับปรุงการกินได้ น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร น้ำหนักซาก และผลผลิตของนกกระทาให้ดีขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Wedekind and Baker (1992) ที่ทำการศึกษาเปรียบ เทียบการใช้ประโยชน์ได้ของสังกะสีในรูปอินทรีย์และรูปอนินทรีย์โดยทำการทดลองเสริม Zn-methionine ที่ระดับ 54 มก./กก.กับ $ZnSO_4$ ที่ระดับ 60 มก./กก.ในอาหารไก่เนื้อโดยใช้อาหารพื้นฐานข้าวโพดกับกากถั่วเหลืองและใช้กระดูกแข้ง (tibia) เป็นพารามิเตอร์ในการเปรียบเทียบการใช้ประโยชน์ได้ ผลการทดลองพบว่า Zn-methionine มีค่าการใช้ประโยชน์ได้สัมพัทธ์เท่ากับ 206 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับ $ZnSO_4$

Kim and Patterson (2005) ทำการทดลองเสริมสังกะสีในอาหารไก่ไข่พันธุ์ Leghorn ที่อายุ 45 สัปดาห์ โดยเสริมสังกะสีอนินทรีย์ในรูป $ZnSO_4$ 3 ระดับ คือ 1,000, 2,000 และ 3,000 มก./กก. พบว่าการเสริมสังกะสีในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 1000 มก./กก. ไม่มีผลกระทบต่อปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวัน อัตราการให้ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่เฉลี่ย ความสูงไข่ขาวและความหนาเปลือกไข่ แต่พบว่าการเสริมสังกะสีในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 3000 มก./กก. ส่งผลให้ปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวัน อัตราการให้ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่เฉลี่ย ความสูงไข่ขาวและความหนาเปลือกไข่คุณภาพลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (สังกะสี 114 มก./กก.)

**การใช้แร่ธาตุสังกะสีในสัตว์ปีกต่อระบบภูมิคุ้มกัน**

Bartlett and Smith (2003) ศึกษาผลของการเสริมแร่ธาตุสังกะสี 3 ระดับคือ ระดับต่ำ (34 มก./กก.) ระดับที่เพียงพอต่อความต้องการ (68 มก./กก.) และระดับสูง (181 มก./กก.) ในอาหารไก่เนื้อที่เลี้ยงในสภาพอุณหภูมิที่สุขสบายและสภาวะเครียดจากความร้อนต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันโรคในไก่เนื้อ โดยตรวจวัดระดับ 2-Mercaptoethanol-resistant (MER) ซึ่งเป็นตัวแทนของ IgG และ 2-Mercaptoethanol-sensitive (MES) antibody titer ซึ่งเป็นตัวแทนของ IgM อันเป็นตัวบ่งชี้การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในกระแสเลือด (humural immunity) ซึ่งเป็นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจง (acquired immunity) ในไก่เนื้อ พบว่ากลุ่มที่ได้รับสังกะสีในระดับ 181 มก./กก.มีการตอบสนองของภูมิคุ้มกันหลังการกระตุ้นด้วยเซลล์เม็ดเลือดแดงแกะ (sheep red blood cell; SRBC) ที่ 7 วัน (primary response) สูงขึ้นโดยส่งผลให้ระดับไตเตอร์รวมสูงกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยไตเตอร์รวมนั้นตรวจวัดจากการตอบสนองของแอนติบอดี้ชนิด IgM (3.27) และ IgG (2.08) ส่วนการตอบสนองของภูมิคุ้มกันหลังการกระตุ้นครั้งที่ 2 (secondary challenge) พบว่าการเสริมสังกะสีในระดับ 181 มก./กก.และระดับที่ 68 มก./กก.มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ คือมีระดับไตเตอร์รวม 6.61 และ 6.50 ตามลำดับ แต่สูงกว่ากลุ่มที่ได้รับสังกะสีในระดับ 34 มก./กก. ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4.64 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Beach *et al*., 1980 และ Donker *et al*. (1990) ที่ทำการทดลองเสริมแร่ธาตุสังกะสีลงในอาหารไก่เนื้อ พบว่ามีแนวโน้มในการเพิ่มความสามารถในการสร้างแอนติบอดี้ของไก่เนื้อ นอกจากนี้ Bartlett and Smith (2003) พบว่าไก่เนื้อที่ได้รับอาหารเสริมสังกะสีที่เลี้ยงภายใต้สภาวะความเครียดจากความร้อน มีการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันทั้งแบบ primary response และ secondary response ทั้ง Ig รวม, IgM และ IgG ต่ำกว่ากลุ่มที่เสริมสังกะสีที่เลี้ยงในสภาพอุณหภูมิที่สุขสบายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

Cardoso (2006) ศึกษาการเสริมสังกะสีในอาหาร 3 ระดับ คือ 0, 40 และ 400 มก./กก. ในอาหารพื้นฐานข้าวโพดและกากถั่วเหลือง พบว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมสังกะสีลงในอาหารในระดับ 400 มก./กก มีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของไก่เนื้อหลังการกระตุ้นด้วยวัคซีนนิวคาสเซิลวันที่ 28 และ 35 สูงขึ้น เนื่องจากการเสริมแร่ธาตุสังกะสีในระดับสูงมีส่วนช่วยกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของที ลิมโฟไซต์ บี ลิมโฟไซต์ และเพิ่มจำนวนไซโตไคน์ชนิด IFN-$\gamma$ ซึ่งไปมีผลให้ บี ลิมโฟไซต์เปลี่ยนแปลงเป็นพลาสมาเซลล์ จากนั้นพลาสมาเซลล์จะสร้างอิมมูโนโกลบูลินเพิ่มสูงขึ้นสอดคล้องกับงานทดลองของ Kidd *et al.* (1992) ที่ทำการทดลองในไก่เนื้อโดยเปรียบเทียบการเสริมสังกะสีจาก 2 แหล่ง คือสังกะสีจาก ZnO ที่ระดับ 40 มล./กก. และสังกะสีจาก Zn-methionine ที่ระดับ 140

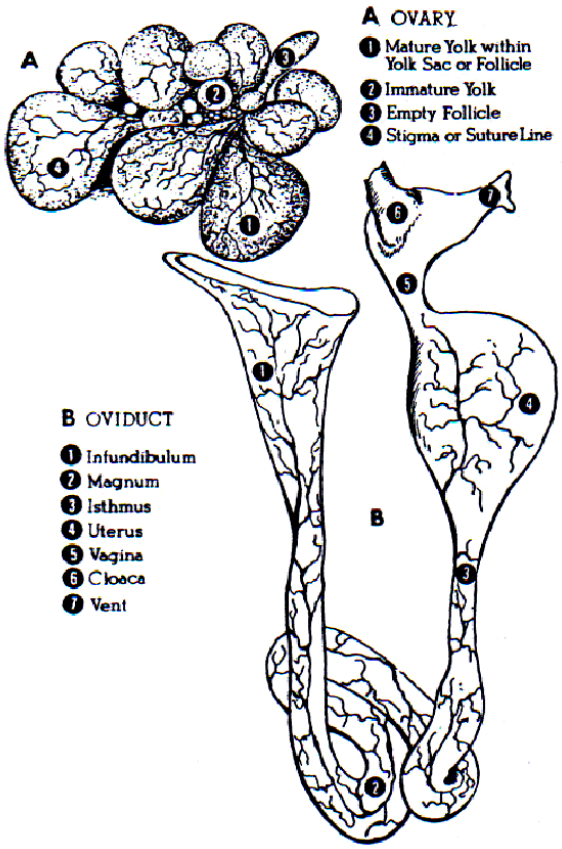
มก./กก. พบว่าการเสริมสังกะสีในรูป Zn-methionine ที่ระดับ 140 มก./กก. สามารถช่วยในการปรับปรุงประสิทธิภาพการทำงานของภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจงในการต่อต้านเชื้อ *Salmonella pullorum* ได้

Kincaid *et al.* (1997) รายงานว่า สังกะสีมีความจำเป็นสำหรับภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ (cell mediated immunity) มีผลต่อการทำงานของภูมิคุ้มกันชนิด บี ลิมโฟไซต์ (B-lymphocyte) ที ลิมโฟไซต์ (T-lymphocyte) และการรักษาเซลล์เม็ดเลือดขาว การทดลองใช้สังกะสีในระดับสูงในหลอดทดลอง (*in vitro*) พบว่าช่วยกระตุ้นการทำงานของ natural killer cells (NK cell) สังกะสีมีความจำเป็นสำหรับภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ และระบบป้องกันตัวของโฮสต์ (Hill and Spears, 2000) มีบทบาทในการรักษาเซลล์เม็ดเลือดขาว (lymphoid cell) และต้านทานต่อการติดเชื้อบางชนิด ภาวะการติดเชื้อบิดและแบคทีเรียจะทำให้ความเข้มข้นของสังกะสีในเนื้อเยื่อลดลง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการติดเชื้อมีผลกระทบต่อสภาวะทางโภชนะในร่างกาย และการขาดสังกะสีทำให้การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันลดลง (Kidd *et al*., 1996)

Kidd *et al*. (1996) รายงานว่า การเสริมสังกะสีในรูป zinc-methionine มีความสำคัญสำหรับการผลิตสัตว์ ส่งผลให้ฝูงสัตว์มีชีวิตรอดสูงขึ้น ปัจจุบันผู้ผลิตสัตว์ได้ให้ความสำคัญในด้านการจัดการสภาพแวดล้อมและสุขภาพของสัตว์ ดังนั้นการวิจัยเกี่ยวกับโภชนาการที่ช่วยในการปรับปรุงสุขภาพและระบบภูมิคุ้มกันโรคในสัตว์ปีก เช่น การเสริมสังกะสีรูป zinc-methionine เพื่อช่วยในการปรับปรุงการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันและเพิ่มสมรรถภาพการเจริญเติบโตของสัตว์ปีก

**กระบวนการสร้างไข่**

สัตว์ปีกเพศเมียประกอบด้วยรังไข่ (ovary) และท่อนำไข่ (oviduct) (ภาพที่ 4) ซึ่งรังไข่ของสัตว์ปีกมีเพียงข้างซ้ายเท่านั้น นอกจากทำหน้าที่ในการสร้างไข่แล้ว รังไข่ยังทำหน้าที่เป็นต่อมไร้ท่อโดยผลิตฮอร์โมนเพศเมีย (estrogen) ฮอร์โมนเพศผู้ (androgen) และฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (progesterone) ฮอร์โมนเพศเมียมีผลทำให้ท่อนำไข่ขยายใหญ่ขึ้น กระดูกเชิงกรานและก้นขยายถ่างกว้าง ทำให้เกิดการสร้างโปรตีนและไขมันเพื่อใช้ในการสร้างไข่ ทำให้เกิดการนำแคลเซี่ยมมาสร้างเปลือกไข่ และเกิดการสร้างกระดูกเมดัลลารี่ (medullary bone) และเกิดลักษณะของขนในเพศเมีย ฮอร์โมนเพศผู้มีผลทำให้ไก่ตัวเมียมีนิสัยข่มเหงรังแกกัน ช่วยในการเจริญของเหนียงและหงอน และทำหน้าที่ร่วมกับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่ทำหน้าที่ในการกระตุ้นการสร้างไข่ขาว




**ภาพที่ 4** ระบบสืบพันธุ์ของไก่เพศเมีย
**ที่มา:** North and Bell (1990)

รังไข่ประกอบด้วยส่วนเมดัลลาและคอร์เทกซ์ ส่วนของคอร์เทกซ์มีฟอลลิเคิลที่อยู่ในช่วงการเจริญเติบโตในระยะต่างๆ มากมาย บริเวณผิวนอกมี germinal epithelium ปกคลุมอยู่ ในระยะที่เป็นตัวอ่อนของเนื้อเยื่อนี้จะเจริญเข้ามาจากชั้นผิวกลายเป็น primary oocyte ในระยะแรกของการเจริญเติบโตของตัวอ่อน จะมีรังไข่และท่อนำไข่ทั้ง 2 ข้าง แต่หลังจากฟักไข่ได้ 8 วัน รังไข่และท่อนำไข่ข้างขวาจะหยุดการเจริญเติบโตและฝ่อไป ทำให้เหลือรังไข่และท่อนำไข่เพียงข้างซ้ายเท่านั้น เมื่อฟักออกเป็นตัวในรังไข่จะมี oocyte จำนวนหลายพันฟองซึ่งสามารถมองเห็นไข่บางฟองได้ด้วยตาเปล่า oocyte เหล่านั้นจะไม่เพิ่มจำนวนจนกว่าจะถึงวัยสาว (อาวุธ, 2538) รังไข่แขวนติดกับผนังช่องท้องด้านบนโดยเยื่อ mesovarium และเชื่อมติดกับเส้นเลือดดำทาง ovarian stalk ซึ่งประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน เส้นเลือด ระบบประสาท และกล้ามเนื้อเรียบ ในช่วงอายุ 3-4 เดือน มีน้ำหนัก 0.3-0.5 กรัม แต่จะเพิ่มขนาดขึ้นอย่างรวดเร็วเป็น 2 กรัม เมื่ออายุ 18-20 สัปดาห์ และก่อนที่จะมีการวางไข่น้ำหนักจะเพิ่มเป็น 4-6 กรัม โดยการขยายขนาดเซลล์ภายในรังไข่และถุงหุ้มไข่ (follicle) เมื่อถึงวัยเจริญพันธุ์รังไข่ซึ่งมีฟองไข่อ่อน (oocyte) อยู่ภายในจำนวนหลายๆ พันฟองจะมี

การเจริญอย่างรวดเร็ว และจะมีการแบ่งขนาดในการเจริญเติบโต ฟองไข่แต่ละฟองจะมีขนาดใหญ่ขึ้น เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 40 มม. น้ำหนักประมาณ 20 กรัม เมื่อใบแรกเจริญเติบโตเต็มที่แล้วก็จะมีการตกไข่ ฟองไข่ที่มีขนาดเล็กลงไปจะเจริญขึ้นมาแทนที่และจะตกในวันถัดมาจนครบ 4-6 ฟอง หลังจากนั้นจะหยุดพักประมาณ 24-36 ช.ม. แล้วจึงเริ่มมีการตกไข่ต่อเนื่องกันอีก จำนวนไข่แต่ละชุดที่แม่ไก่ไข่ติดต่อกันทุกวันโดยไม่หยุดเรียกตับไข่ (clutch)

**การสร้างไข่แดง**

ไข่แดงไม่ใช่เซลล์สืบพันธุ์แต่เป็นแหล่งอาหารของเซลล์เล็กๆ ที่เรียกว่าบลาสโตเดิร์ม เมื่อเข้าสู่วัยสาวขนาดของรังไข่และท่อนำไข่จะเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างมาก โดยก่อนที่แม่ไก่จะวางไข่ฟองแรก 11 วัน การทำงานของระบบฮอร์โมนเพศจะเริ่มขึ้นโดยฮอร์โมน FSH (follicle stimulating hormone) จากต่อมใต้สมองส่วนหน้าจะไปกระตุ้น ovarian follicle ให้มีการขยายขนาดขึ้น หลังจากนั้นรังไข่จะเริ่มอยู่ในสภาพที่สามารถทำงานได้ ทำให้เกิดการสร้างฮอร์โมนเอสโตรเจนโปรเจสเตอโรน และเทสโทสเตอโรนทำให้เกิดการสะสมสารอาหารโปรตีนและไขมันในฟองไข่ ซึ่งสารอาหารเหล่านี้ส่งมาจากตับผ่านทางกระแสเลือด ทำให้ไข่แดงจะสุกได้ภายใน 1-2 วัน ต่อมาไข่แดงฟองที่ 2 จะเริ่มเจริญ เมื่อไข่ฟองแรกออกจากตัวแม่ไก่ ไข่แดงอีก 5-10 ฟอง จะเข้ากระบวนการเจริญต่อไป ดังนั้นการที่ไข่แต่ละฟองสุกต้องใช้เวลา 10-11 วัน การสะสมสารต่างๆ ในไข่แดงจะช้ามากในระยะแรก แต่เมื่อเส้นผ่านศูนย์กลางไข่ได้ 6 มม. ไปแล้วการสะสมสารต่างๆ จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว การเกิดสีในไข่แดงเนื่องจากการสะสมสารแซนโทฟิลล์ (xanthophylls) ซึ่งเป็นรงควัตถุที่เป็นแหล่งสารสีในอาหารการสะสมจะเกิดขึ้นมากในช่วงกินอาหารทำให้มีสีเข้ม และจะสะสมน้อยในช่วงที่อดอาหารทำให้มีสีจาง การสะสมจะเริ่มสะสมจากชั้นนอกเข้าไปหาชั้นใน แถบเข้มและแถบสว่างในไข่แดงจะมี 7-11ชั้น ตามระยะเวลาการสร้างไข่

**การตกไข่**

ไข่ที่กำลังเจริญและขยายขนาดจะอยู่ภายในเยื่อบางๆ ที่เรียกว่าฟอลลิเคิล ซึ่งฟอลลิเคิลแต่ละอันจะยึดอยู่กับก้านกระเปาะเล็กๆ ของรังไข่ที่เรียกว่า follicular stalk บริเวณผิวของถุงหุ้มไข่แดงจะมีเส้นเลือดแดงจำนวนมากมาหล่อเลี้ยง ยกเว้นตอนกลางของไข่ ซึ่งจะเป็นบริเวณที่ถุงหุ้มไข่เกิดการฉีกขาดเรียกแนวนี้ว่า stigma เมื่อไข่แดงสุก รังไข่จะหลั่งฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนไปที่สมองส่วนไฮโปทาลามัส ซึ่งส่งผลกระตุ้นต่อไปยังต่อมใต้สมองส่วนหน้าให้หลั่งฮอร์โมน LH (leuteinizing hormone) มาที่รังไข่เพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดการตกไข่ ซึ่งฮอร์โมนนี้จะหลั่งออกมามาก

ที่สุดในเวลา 4-6 ช.ม. ก่อนที่แม่ไก่จะเกิดการตกไข่ (Johnson and van Tienhoven, 1990) ทำให้ถุงหุ้มไข่เกิดการฉีกขาด ไข่ที่สุกจะตกสู่ท่อนำไข่ส่วนปากแตร ไข่ที่ตก (ovum) ประกอบด้วยเยื่อหุ้มไข่ (vitelline membrane) เซลล์สืบพันธุ์ (germinal disc) และส่วนประกอบของไข่แดง (yolk) การตกไข่ในครั้งแรก เกิดจากการกระตุ้นโดยระบบประสาทและฮอร์โมน การตกไข่ฟองต่อมาจะเกิดหลังจากการวางไข่ฟองแรก 10-40 นาที ไข่ในแต่ละชุดที่ตกไข่จะมี 4-6 ฟอง แม่ไก่ที่ไข่ดีตับไข่จะยาวและระยะห่างระหว่างตับสั้น หลังจากเกิดการตกไข่แล้ว ยังต้องใช้เวลาในการสร้างไข่ขาว เยื่อหุ้มไข่และเปลือกไข่อีก 23-26 ช.ม. ถ้าแม่ไก่ใช้เวลาในการสร้างนานกว่า 24 ช.ม. จะทำให้การวางไข่ในแต่ละวันช้าลงและทำให้การตกไข่เกิดขึ้นช้าตามไปด้วย ไข่ที่วางในตอนบ่ายจะอยู่ในท่อนำไข่นานกว่าไข่ที่วางในตอนเช้าและหลังจากตอนบ่ายไปแล้วจะไม่เกิดการตกไข่ แม่ไก่ที่ตับไข่ยาวจะวางไข่ฟองแรกในตอนเช้า การตกไข่ฟองต่อมาจะเกิดเร็ว ทำให้ช่วงเวลาที่แม่ไก่วางไข่ช้าไปในแต่ละวันสั้นลง เมื่อแม่ไก่เริ่มไข่ในช่วงอายุสัปดาห์แรก การตกไข่จะไม่สม่ำเสมอ และอาจตกไข่เพียง 2-4 ฟองเนื่องจากระบบฮอร์โมนยังไม่สมบูรณ์ นอกจากนี้แม่ไก่ที่เริ่มไข่ใหม่ๆ มักจะเกิดไข่แฝดเนื่องจากรังไข่ทำงานมากเกินไป มักเกิดในไก่เนื้อมากกว่าไก่ไข่ (อาวุธ, 2538)

**กระบวนการสะสมสังกะสีในไข่แดง**

การขนส่งสังกะสีเพื่อนำไปสะสมยังส่วนของไข่แดง (yolk granule) โดยมีการนำสังกะสีจากร่างกายของแม่ไก่ไข่ไปสะสมยังส่วนของฟองไข่นั้นเกิดขึ้นได้ 2 ทาง คือ ทางแรกสังกะสีจะถูกขนส่งจากส่วนของรังไข่ของแม่ไก่ไข่เพื่อนำไปสะสมยังไข่แดงโดยตรง และทางที่สองสังกะสีจะถูกขนส่งจากส่วนของรังไข่ของแม่ไก่ไข่เพื่อไปสะสมยังโปรตีนอัลบูเมน (albumen) เยื่อหุ้มเปลือกไข่ (shell membrane) และเปลือกไข่ ซึ่งสังกะสีที่สะสมอยู่ภายในไข่แดง จะช่วยเพิ่มการพัฒนาของเยื่อหุ้มไข่แดง (oocyte accumulate circulating vitellogenin) โดยบริเวณเยื่อหุ้มไข่แดงจะมีการรวมตัวกับสังกะสี ซึ่งมีตัวรับเฉพาะ (receptor-mediated endocytosis) อีกทั้งสังกะสีมีผลต่อกระบวนการสร้าง lipovitellin และ phosvitin ในไข่แดง ซึ่งสังกะสีที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในส่วนของไข่แดงนั้น 90 เปอร์เซ็นต์ของสังกะสีที่มีอยู่ในไข่แดงจะจับตัวอยู่กับ lipovitellin แล้วสะสมอยู่ภายในไข่แดง (Greengrad *et al*., 1964)

# อุปกรณ์และวิธีการ

## อุปกรณ์

### 1. สัตว์ทดลอง

ทำการทดลองศึกษาการใช้สังกะสีอินทรีย์ในอาหารไก่ไข่ ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) โดยใช้ไก่ไข่พันธุ์ Rohmann Brown ที่อายุ 53 สัปดาห์ จำนวน 360 ตัว ซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ย 1.93 กก.

### 2. อาหารทดลอง

อาหารทดลองเป็นอาหารพื้นฐานข้าวโพด-กากถั่วเหลือง โดยคำนวณให้มีค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้และโปรตีนเท่ากันทุกสูตรคือ 2,750 kcal/kg และ 17.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2) และมีการเสริมสังกะสีในอาหารที่ระดับต่างๆ ดังนี้คือ

สูตรที่ 1 อาหารควบคุม (ข้าวโพด-กากถั่วเหลือง)
สูตรที่ 2 อาหารควบคุมเสริมด้วยสังกะสีอินทรีย์[1] ในระดับ 40 มก./กก
สูตรที่ 3 อาหารควบคุมเสริมด้วยสังกะสีอินทรีย์[1] ในระดับ 80 มก./กก
สูตรที่ 4 อาหารควบคุมเสริมด้วยสังกะสีอินทรีย์[1] ในระดับ 120 มก./กก
สูตรที่ 5 อาหารควบคุมเสริมด้วยสังกะสีอนินทรีย์[2] ในระดับ 120 มก./กก

แหล่งของแร่ธาตุสังกะสีอินทรีย์ได้มาจากผลิตภัณฑ์ Availa® -Zn[1] ซึ่งอยู่ในรูป zinc amino acid complex ประกอบด้วยสังกะสี 12 เปอร์เซ็นต์ ส่วนแร่ธาตุสังกะสีอนินทรีย์ใช้ในรูปของ $ZnSO_4$[2] ซึ่งมีปริมาณของสังกะสี 36 เปอร์เซ็นต์

---

[1]Availa® Zn_Zinc amino acid complex, ZinPro Corporation Inc., USA.

[2]$ZnSO_4$ (36% Zinc), A.R. grade, Asia Pacific Specialty Chemicals Limited, Australia

**ตารางที่ 2** ส่วนประกอบของอาหารพื้นฐานที่ใช้ในการทดลอง

| ส่วนประกอบของอาหาร | เปอร์เซ็นต์ |
|---|---|
| ข้าวโพด | 56.82 |
| น้ำมันถั่วเหลือง | 2.04 |
| กากถั่วเหลือง 44% CP | 29.83 |
| ดีแอล-เมธไทโอนีน | 0.1 |
| โคลีนคลอไรด์ | 0.01 |
| ไดแคลเซียมฟอสเฟต 18% P | 2.18 |
| แคลเซียมคาร์บอเนต | 7.88 |
| เกลือ | 0.40 |
| พรีมิกซ์ | 0.25 |
| พรีมิกซ์ สังกะสี | 0.50 |
| รวม | 100.00 |
| ส่วนประกอบโภชนะโดยการคำนวณ | |
| พลังงานใช้ประโยชน์ได้สำหรับสัตว์ปีก (kcal/kg) | 2,750.00 |
| โปรตีน (%) | 17.50 |
| เถ้า (%) | 2.50 |
| ไขมัน (%) | 4.36 |
| เยื่อใย (%) | 3.51 |
| แคลเซียม (%) | 3.80 |
| ฟอสฟอรัสทั้งหมด (%) | 0.73 |
| ฟอสฟอรัสใช้ประโยชน์ได้สำหรับสัตว์ปีก (%) | 0.40 |
| เกลือ (%) | 0.45 |
| ไลซีน (%) | 0.94 |
| เมธไทโอนีน (%) | 0.38 |
| เมธไทโอนีน + ซีสทีน (%) | 0.65 |
| โคลีน (mg/kg) | 1,400.00 |
| โซเดียม (%) | 0.17 |

[1/] รายละเอียดส่วนประกอบของพรีมิกซ์ไวตามิน-แร่ธาตุ แสดงในตารางที่ 3

[2/] พรีมิกซ์สังกะสีในอาหาร 100 กก. ประกอบด้วยสังกะสี 0 กรัม และข้าวโพดอ่อน 500 กรัม

**ตารางที่ 3** ส่วนประกอบใน 1 กิโลกรัมของพรีมิกซ์วิตามิน-แร่ธาตุสำหรับไก่ไข่

| วิตามิน | ปริมาณ* |
|---|---|
| วิตามินเอ | 4.00 IU (ล้านหน่วยสากล) |
| วิตามินดี | 1.2 IU (ล้านหน่วยสากล) |
| วิตามินอี | 4,000 มก. |
| วิตามินเค | 600 มก. |
| วิตามินบี 1 | 800 มก. |
| วิตามินบี 2 | 2,000 มก. |
| วิตามินบี 6 | 1,200 มก. |
| วิตามินบี 12 | 2.5 มก. |
| กรดโฟลิค | 200 มก. |
| กรดนิโคตินิก | 5,000 มก. |
| กรดแพนโทเธนิก | 3,000 มก. |
| ไบโอติน | 4 มก. |
| โคลีนคลอไรด์ | 100,000 มก. |
| แมงกานีส | 24 ก |
| เหล็ก | 16 ก. |
| สังกะสี | 20 ก. |
| ทองแดง | 4 ก. |
| ไอโอดีน | 0.8 ก. |
| ซิลีเนียม | 0.04 ก. |
| โคบอลต์ | 0.08 ก. |

*พรีมิกซ์ที่ใช้ในสูตรอาหาร 0.25 เปอร์เซ็นต์ ประกอบด้วยวิตามินพรีมิกซ์ประมาณ 0.234 เปอร์เซ็นต์ และแร่ธาตุพรีมิกซ์ประมาณ 0.016 เปอร์เซ็นต์

**4. โรงเรือน คอกทดลอง และอุปกรณ์**

4.1 เลี้ยงในโรงเรือนที่มีการระบายอากาศด้วยระบบระเหยไอน้ำ (evaporative cooling system) ภายในเป็นกรงตับ เลี้ยงกรงละ 2 ตัว

4.2 อุปกรณ์ในการเลี้ยง ได้แก่ กรงตับพื้นลวดขนาด 30 × 40 × 37 เซนติเมตร จำนวน 240 ช่อง รางอาหารติดด้านหน้ากรงตับ ขนาดความกว้าง 15 เซนติเมตร และลึก 10 เซนติเมตร ถังบรรจุอาหารจำนวน 30 ถัง และระบบการให้น้ำอัตโนมัติแบบหัวหยด (nipple)

4.3 อุปกรณ์ในการผสมอาหาร ได้แก่

- เครื่องชั่งน้ำหนักดิจิตอล 2 ตำแหน่ง ขนาดชั่งได้สูงสุด 5,000 กรัม สำหรับชั่งพรีมิกซ์แร่ธาตุและวิตามิน เครื่องชั่งน้ำหนักดิจิตอล 2 ตำแหน่ง ขนาดชั่งได้สูงสุด 150 กรัม สำหรับชั่งแร่ธาตุสังกะสีอินทรีย์และแร่ธาตุสังกะสีอนินทรีย์ และเครื่องชั่งน้ำหนักแบบจาน ขนาดชั่งได้สูงสุด 30 กิโลกรัม สำหรับชั่งอาหารทดลอง และน้ำหนักไก่

- เครื่องผสมอาหาร ความจุขนาด 100 กิโลกรัม

4.4 อุปกรณ์การวิเคราะห์คุณภาพไข่ ได้แก่ เครื่องวัดความสูงไข่ขาว เครื่องชั่งน้ำหนักไข่ 2 ตำแหน่ง ขนาดชั่งได้สูงสุด 150 กรัม พัดวัดสีไข่แดง ไมโครมิเตอร์สำหรับวัดความหนาเปลือกไข่ และอุปกรณ์หาความถ่วงจำเพาะของฟองไข่ เป็นต้น

**5. อุปกรณ์อื่นๆ ที่ใช้ในการทดลอง**

5.1 เทอร์โมมิเตอร์สำหรับวัดอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์

5.2 อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างอาหารทดลอง

5.3 อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางโภชนะของอาหารทดลอง

5.4 เครื่องวิเคราะห์พลังงาน (bomb calorimeter)

5.5 อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับวิเคราะห์หาเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส

## วิธีการทดลอง

### 1. แผนการทดลอง

การศึกษาดำเนินการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) แบ่งไก่ไข่ออกเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ซ้ำ ซ้ำละ 12 ตัว ไก่ไข่ถูกเลี้ยงในกรงตับ 2 ตัวต่อกรงตับ โดยไก่ไข่ทุกตัวได้รับอาหารควบคุมที่ไม่เสริมสังกะสีจากแหล่งอินทรีย์และอนินทรีย์เป็นเวลา 1 สัปดาห์ แล้วจึงให้อาหารทดลองเป็นระยะเวลา 140 วัน โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 5 ระยะ ระยะละ 28 วัน และมีแบบหุ่นทางสถิติดังนี้คือ

$$\mathbf{Y}_{ijk} = \mu + \mathbf{L}_{i} + \mathbf{T}_{j} + \mathbf{LT}_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

$\mathbf{Y}_{ijk}$ = ค่าสังเกตจากช่วงการทดลองที่ i ทรีทเมนต์ที่ j ซ้ำที่ k

$\mu$ = ค่าเฉลี่ยประชากร

$\mathbf{L}_{i}$ = ช่วงการทดลองต่างๆ โดยที่ i = 1, 2, 3, 4

$\mathbf{T}_{j}$ = อิทธิพลของทรีทเมนต์ โดยที่ j = 1, 2, 3, 4, 5, 6

$\mathbf{LT}_{ij}$ = อิทธิพลร่วมระหว่างช่วงการทดลอง และอิทธิพลของทรีทเมนต์

$\varepsilon_{ijk}$ = ความคลาดเคลื่อนเนื่องจากอิทธิพลอื่นๆ

### 2. การจัดการเลี้ยงดู

ไก่ไข่ทุกกลุ่มได้รับอาหารทดลองและน้ำดื่มอย่างเต็มที่ โดยให้อาหารวันละ 2 ครั้ง คือ เช้า เวลา 7.00 น. และเย็น เวลา 15.00 น. และสังเกตให้มีอาหารเหลืออยู่ในรางอาหารเพียงเล็กน้อย ในแต่ละครั้งที่ทำการให้อาหาร น้ำสะอาดจะให้ผ่านระบบน้ำหยด ไก่ไข่จะได้รับแสงตามโปรแกรมการให้แสงวันละ 16 ชั่วโมง ตลอดการทดลอง

**3. การบันทึกข้อมูล**

1. สมรรถภาพการผลิต

การบันทึกข้อมูลแบ่งออกเป็น 5 ระยะๆ ละ 28 วัน คือ เมื่อเลี้ยงไก่ไข่ครบ 28, 56, 84, 112 และ 140 วัน โดยในแต่ละระยะมีการบันทึกข้อมูลดังนี้คือ

1. บันทึกการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว โดยชั่งไก่แต่ละตัวเมื่อเริ่มต้น และสิ้นสุดการทดลอง แล้วนำมาคำนวณเป็นน้ำหนักไก่เฉลี่ยแต่ละกลุ่มการทดลอง

2. บันทึกปริมาณอาหารที่กินทั้งหมดของแต่ละระยะการทดลอง แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวัน ปริมาณอาหารที่กินต่อน้ำหนักไข่ 1 กิโลกรัม และปริมาณอาหารที่กินต่อผลผลิตไข่ 1 โหล

3. บันทึกผลผลิตไข่ โดยบันทึกจำนวนไข่ในแต่ละซ้ำทุกวัน แล้วนำมาคำนวณเป็นอัตราการผลิตไข่ของไก่ไข่แต่ละกลุ่มการทดลอง

4. บันทึกน้ำหนักไข่ โดยเก็บไข่มาชั่งรวมทีละซ้ำทุกวัน แล้วนำมาคำนวณเป็นน้ำหนักไข่เฉลี่ยต่อฟอง

5. บันทึกจำนวนไก่ตายของแต่ละซ้ำ แล้วนำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การเลี้ยงรอด

6. บันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ภายในโรงเรือน

นำค่าต่างๆ ที่ได้จากการบันทึกมาคำนวณตามวิธีของ North and Bell (1990) ดังต่อไปนี้

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

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

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

ปริมาณอาหารที่กินต่อผลผลิตไข่ 1 โหล = $\frac{\text{ปริมาณอาหารที่กินในช่วงการทดลอง} \times 12}{\text{จำนวนไข่ในแต่ละช่วงการทดลอง}}$

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไข่ = $\frac{\text{ปริมาณอาหารที่กินในช่วงการทดลอง (ก.)}}{\text{มวลไข่ในแต่ละช่วงการทดลอง (ก.)}}$

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

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

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

มวลไข่ต่อแม่ไก่ต่อวัน = อัตราการให้ผลผลิตไข่ (HD) (%) × น้ำหนักไข่เฉลี่ยต่อฟอง (กรัม)

เปอร์เซ็นต์การเลี้ยงรอด = $\frac{\text{จำนวนไก่สิ้นสุดช่วงการทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนไก่เริ่มต้นการทดลอง}}$

2. คุณภาพไข่

ทำการตรวจวัดคุณภาพของไข่ โดยการสุ่มไข่ซ้ำละ 2 ฟอง จากทุก 3 วันสุดท้ายของแต่ละระยะ โดยทำการวิเคราะห์คุณภาพไข่ที่สุ่มในแต่ละวันทันทีภายหลังจากทำการสุ่ม จากนั้นนำข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ทั้ง 3 วันจากแต่ละระยะมาหาค่าเฉลี่ย การวิเคราะห์คุณภาพไข่นั้นทำการบันทึกค่าความเข้มสีไข่แดงโดยใช้พัดวัดสีไข่แดง (yolk color fan) ที่มีสีเหลืองอ่อนถึงสีส้มแดงตั้งแต่ 1-15 (คะแนน) วิเคราะห์ความหนาเปลือกไข่โดยใช้ไมโครมิเตอร์สำหรับวัดความหนาผิวโค้งแต่ต้องหักเปลือกไข่ไม่ให้ติดเยื่อหุ้ม สุ่มเปลือกไข่จากแนวกึ่งกลางฟองไข่ขนาด 0.5×0.5 เซนติเมตร

จำนวน 3 ชิ้น (เปลือกไข่บริเวณด้านป้าน ด้านแหลม และด้านข้างของฟองไข่) วัดค่าเป็นมิลลิเมตร ทำการวิเคราะห์ความถ่วงจำเพาะของไข่โดยการลอยในน้ำเกลือที่มีความถ่วงจำเพาะต่างๆ ตั้งแต่ 1.060, 1.064, 1.068, 1.072, 1.076, 1.080, 1.084, 1.088, 1.092, 1.096, 1.100 และ 1.104 โดยใช้ไฮโดรมิเตอร์ (hydrometer) วัดความถ่วงจำเพาะให้ได้ตามกำหนด แล้วนำไข่ที่ต้องการทดสอบมาลอยในน้ำเกลือที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ จากน้อยไปหามาก หากไข่ฟองใดมีส่วนเปลือกลอยเหนือผิวน้ำ โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 เซนติเมตร (ขนาดเท่าเหรียญบาท) แสดงว่าไข่ฟองนั้นมีความถ่วงจำเพาะเท่ากับความถ่วงจำเพาะของน้ำเกลือนั้นๆ จากนั้นทำการตอกไข่เพื่อตรวจสอบคุณภาพภายใน โดยทำการวิเคราะห์ความสูงของไข่ขาวข้นด้วยชุดตรวจสอบคุณภาพไข่ขาวที่ประกอบด้วย QCD ชุดแสดงผลระบบดิจิตอล และ albumen height gauge ได้ค่าความสูงไข่ขาวเป็นมิลลิเมตร และนำมาคำนวณค่าฮอฟ์ยูนิต (Haugh unit) ด้วยสมการของ Roush (1981)

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

เมื่อ HU = ค่าฮอฟ์ยูนิต

H = ความสูงของไข่ขาว (มิลลิเมตร)

W = น้ำหนักฟองไข่ (กรัม)

หรือแปลงเป็นสูตรสำหรับโปรแกรม Microsoft Excel ดังนี้

$$HU = (100 \times [Log \{H + 7.57 - (1.7 \times [Power \{W, 0.37\}])\}])$$

3. การวิเคราะห์ปริมาณสังกะสีในไข่แดง

ทำการวิเคราะห์ปริมาณสังกะสีในไข่แดง โดยการสุ่มไข่ไก่ในแต่ละซ้ำ ซ้ำละ 6 ฟอง เมื่อเลี้ยงไก่ครบที่ 7 28 56 และ 84 วัน แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสังกะสีในไข่แดง โดยเครื่อง optical emission spectrometer (OES) รุ่น Optima 2000 DV ตามวิธีของ AOAC (2000)

4. การทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส

ศึกษาผลของการเสริมสังกะสีอินทรีย์ในรูป zinc amino acid complex และสังกะสีอนินทรีย์ในรูป $ZnSO_4$ ที่ระดับต่างๆ ในอาหารไก่ไข่ ต่อการทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตสโดยใช้ SOD Assay Kit-WST ตามวิธีของ Ukeda *et al.* (1999) โดยทำการสุ่มไก่ไข่ทดลองในแต่ละซ้ำ ซ้ำละ 2 ตัว เจาะเลือดไก่ไข่ที่อายุ 53 สัปดาห์ เมื่อเริ่มต้นการทดลอง ซึ่งไก่ไข่ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มีอายุมาก มีการให้ผลผลิตมาเป็นระยะเวลานาน ซึ่งคาดว่าอาจเกิดความเครียดอันเนื่องมาจากการให้ผลผลิต และการถูกเลี้ยงบนกรงตับอาจเกิดการสร้างอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นจากสภาวะปกติ จึงได้มีการวัดการทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส โดยการเจาะเลือดบริเวณปีกของไก่ไข่ปริมาตร 3 ซีซี/ตัว เพื่อทำการเก็บซีรั่มในวันแรกของการทดลองเลี้ยงไก่ และเมื่อสิ้นสุดการทดลองของระยะที่ 1 และ 3 ทำการแยกซีรั่มและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์การทำงานของซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส ตัวอย่างเลือดที่ได้จะนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยแรง 3,000 *g* ที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 นาที แยกซีรั่มออกมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์หาเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส โดยใช้ชุดทดสอบSOD Assay kit-WST นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader รุ่น rosys anthos lucy 2 ค่าที่ได้เป็นค่า optical density (OD value) และนำไปเปรียบเทียบกับ standard curve ที่ได้

5. การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจง

ทำการตรวจวัดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจงภายหลังจากการกระตุ้นด้วยเซลล์เม็ดเลือดแดงแกะ (sheep red blood cell, SRBC) ทำการกระตุ้นไก่ไข่ด้วย 7% SRBC เมื่อสิ้นสุดการทดลองระยะที่ 5 โดยก่อนการกระตุ้นด้วยเซลล์เม็ดเลือดแดงแกะ จะทำการเก็บเลือดไก่บริเวณปีกจากกลุ่มทดลองละ 12 ตัว ตัวละ 3 ซีซี/ตัว จากนั้นทำการกระตุ้นครั้งแรกโดยการฉีดด้วย 7% SRBC ประมาณ 3 ซีซี/ตัว เข้าเส้นเลือดดำบริเวณปีก ภายหลังจากการกระตุ้นที่ 7 วัน ทำการเก็บเลือดบริเวณปีกจำนวน 3 ซีซี เพื่อวิเคราะห์หาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันหลังการกระตุ้นครั้งแรก (primary antibody response) หลังจากการกระตุ้นครั้งแรกแล้ว 14 วัน ทำการกระตุ้นซ้ำด้วย 7% SRBC ประมาณ 3 ซีซี/ตัว โดยฉีดเข้าเส้นเลือดดำบริเวณปีก และหลังจากการกระตุ้นครั้งที่ 2 เป็นเวลา 3 วัน ทำการเก็บตัวอย่างเลือดนำไปปั่นเหวี่ยงแยกซีรั่ม เพื่อวิเคราะห์หาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันหลังการกระตุ้นครั้งที่ 2 (secondary antibody response) นำตัวอย่างซีรั่มไปตรวจหาค่าระดับภูมิคุ้มกันต่อเม็ดเลือดแดงแกะ (total antibody) โดยวิธี haemagglutination

inhibition test (HI test) ตรวจหา immunoglobulin M (IgM) โดยใช้ chicken IgM ELISA quantitation kit (Bethyl, Inc. USA.) และ immunoglobulin G (IgG) โดยใช้ chicken IgG ELISA quantitation kit (Bethyl, Inc. USA.)

6. การวิเคราะห์ทางเคมี

การวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางโภชนะต่างๆ ของอาหารที่ใช้ทำการทดลอง คือ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า และไนโตรเจนฟรีเอกซ์แทรค โดย proximate analysis ตามวิธีของ A.O.A.C. (1990) และวิเคราะห์หาค่าพลังงานในอาหาร โดยใช้เครื่อง bomb calorimeter ตามวิธีของอังคณา และดวงสมร (2532)

**4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ**

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองทั้งหมดจะถูกนำไปวิเคราะห์ความแปรปรวนโดย analysis of variance และทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของกลุ่มทดลองโดยวิธี Duncan's new multiple's range test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS (2003)

**5 สถานที่ทำการทดลอง**

1. ศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตสัตว์ปีก สถาบันสุวรรณวาจกกสิกิจ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

2. ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

3. วิเคราะห์แร่ธาตุสังกะสีในไข่แดง ณ ศูนย์บริการประกันคุณภาพอาหาร สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร

4. วิเคราะห์หาเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสในซีรั่ม ณ ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

5. วิเคราะห์หาระดับภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจง (IgG และ IgM) ณ ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม และห้องปฏิบัติการ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

**6. ระยะเวลาที่ทำการทดลอง**

เริ่มทำการทดลอง : สิงหาคม 2550
สิ้นสุดการทดลอง : ธันวาคม 2550

# ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลจากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยวิเคราะห์หาปฏิกิริยาร่วมระหว่างกลุ่มทดลองกับช่วงระยะเวลาที่ทำการทดลอง พบว่าไม่มีปฏิกิริยาร่วมของปัจจัยทั้ง 2 ที่จะมีผลต่อค่าต่างๆ ที่ทำการตรวจวัด ดังนั้นจึงได้นำข้อมูลของแต่ละช่วงระยะการทดลองมาหาค่าเฉลี่ย และนำเสนอในรูปของค่าในแต่ละกลุ่มทดลอง

## ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนะของอาหารทดลอง

ผลการวิเคราะห์ส่วนประกอบของโภชนะต่างๆ ในอาหารทดลองแต่ละสูตร แสดงไว้ในตารางที่ 4 โดยพบว่าเปอร์เซ็นต์โปรตีนและค่าพลังงานรวมของอาหารทุกสูตรมีค่าใกล้เคียงกันและสอดคล้องกับค่าที่ได้จากการคำนวณ

## ผลของการเสริมแร่ธาตุสังกะสีอินทรีย์ ต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่

ผลของการเสริมสังกะสีที่ระดับ 40, 80 และ 120 มก./กก ในรูปของ zinc amino acid complex และที่ระดับ 120 มก./กก ในรูปของ $ZnSO_4$ ในอาหาร พบว่าส่งผลให้ไก่ไข่ทุกกลุ่มมีปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวัน แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณสังกะสีที่มีอยู่ในอาหารมีความเพียงพอต่อความต้องการของแม่ไก่อยู่แล้ว ซึ่งความต้องการสังกะสีของไก่ไข่พันธุ์เปลือกไข่สีน้ำตาลที่อายุ 18 สัปดาห์ถึงช่วงอายุการให้ไข่ คือ 33 มก./กก.ของอาหาร (NRC, 1994) จากผลการทดลองในครั้งนี้ พบว่ากลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริมสังกะสีอินทรีย์ที่ระดับ 40, 80 และ 120 มก./กก และกลุ่มที่ได้รับการเสริมสังกะสีอนินทรีย์ที่ระดับ 120 มก./กก มีปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวันเท่ากับ 122.81, 121.04, 120.21, 122.83 และ 122.75 กรัมต่อตัวต่อวัน ตามลำดับ ซึ่งแม่ไก่ได้รับสังกะสีเท่ากับ 66.95, 81.77, 91.93, 110.07 และ 91.03 มก./ตัว/วัน ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าแม่ไก่ได้รับสังกะสีเพียงพอต่อความต้องการของร่างกายและการให้ผลผลิต (ตารางที่ 5)

**ตารางที่ 4** องค์ประกอบทางโภชนะของอาหารที่ใช้ในการทดลอง (เปอร์เซ็นต์)

| กลุ่มทดลอง | พลังงานรวม (kcal/kg) | ความชื้น | โปรตีนรวม | ไขมันรวม | เยื่อใยรวม | เถ้า | แคลเซียม | ฟอสฟอรัส |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| อาหารพื้นฐาน | 4,048 | 10.08 | 18.26 | 5.23 | 4.59 | 6.29 | 4.29 | 0.72 |
| อาหารพื้นฐาน + 40 มก./กก | 4,109 | 9.99 | 18.43 | 5.39 | 4.03 | 6.42 | 4.26 | 0.62 |
| อาหารพื้นฐาน + 80 มก./กก | 4,101 | 9.99 | 18.61 | 5.39 | 4.00 | 6.34 | 4.21 | 0.62 |
| อาหารพื้นฐาน + 120 มก./กก | 4,040 | 9.86 | 18.78 | 5.13 | 3.99 | 6.62 | 4.36 | 0.75 |
| อาหารพื้นฐาน + 120 มก./กก | 3,956 | 9.95 | 18.1 | 5.19 | 4.00 | 6.35 | 4.24 | 0.65 |

**ตารางที่ 5** ปริมาณสังกะสีในสูตรอาหารทดลอง และปริมาณสังกะสีที่แม่ไก่ได้รับ

| กลุ่มทดลอง | ปริมาณแร่ธาตุสังกะสีในอาหาร (มก./กก.) | ปริมาณแร่ธาตุสังกะสีที่แม่ไก่ได้รับ (มก./ตัว/วัน) |
|---|---|---|
| อาหารพื้นฐาน | 545.17 | 66.95 |
| อาหารพื้นฐาน + 40 มก./กก | 675.57 | 81.77 |
| อาหารพื้นฐาน + 80 มก./กก | 764.70 | 91.93 |
| อาหารพื้นฐาน + 120 มก./กก | 896.08 | 110.07 |
| อาหารพื้นฐาน + 120 มก./กก | 741.60 | 91.03 |
| P-value | - | - |
| Pool SE± | - | - |

**1. ปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวัน**

ผลการทดลองเสริมสังกะสีที่ระดับต่างๆ ในอาหารไก่ไข่ พบว่าปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวันของทุกกลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) โดยกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมสังกะสีอินทรีย์ที่ระดับ 40, 80 และ 120 มก./กก และกลุ่มที่เสริมสังกะสีอนินทรีย์ที่ระดับ 120 มก./กก มีปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวันเท่ากับ 122.81, 121.04, 120.21, 122.83 และ 122.75 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ (ตารางที่ 6) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก การทดลองในครั้งนี้ทดลองเลี้ยงภายใต้ระบบการเลี้ยงในโรงเรือนที่มีการระบายอากาศด้วยระบบระเหยไอน้ำ ซึ่งได้มีการควบคุมอุณหภูมิและความชื้นไว้อย่างเหมาะสม ทำให้สัตว์ทดลองอยู่ในสภาพแวดล้อมที่สุขสบาย อีกทั้งไก่ไข่ทุกกลุ่มได้รับการจัดการเลี้ยงดูที่เหมือนกัน จึงทำให้ปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวันของไก่ไข่ไม่แตกต่างกัน และจากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง พบว่าอาหารทุกสูตรมีระดับพลังงานใกล้เคียงกัน ซึ่งระดับพลังงานในอาหารนั้นเป็นตัวควบคุมปริมาณการกินได้ของอาหารในไก่ไข่ ดังนั้นเมื่ออาหารทุกสูตรมีระดับพลังงานใกล้เคียงกัน จึงมีผลให้ไก่ไข่ทุกกลุ่มการทดลองมีปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวันไม่แตกต่างกัน

**ตารางที่ 6** ผลของการเสริมสังกะสีอินทรีย์ ต่อปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวันและอัตราการเลี้ยงรอด

| กลุ่มทดลอง | อาหารที่กินต่อตัวต่อวัน (กรัม/ตัว/วัน) | อัตราการเลี้ยงรอด (เปอร์เซ็นต์) |
|---|---|---|
| อาหารพื้นฐาน | 122.81 | 99.17 |
| อาหารพื้นฐาน + 40 มก./กก | 121.04 | 99.44 |
| อาหารพื้นฐาน + 80 มก./กก | 120.21 | 100.00 |
| อาหารพื้นฐาน + 120 มก./กก | 122.83 | 99.44 |
| อาหารพื้นฐาน + 120 มก./กก | 122.75 | 99.72 |
| P-value | 0.8438 | 0.6503 |
| Pool SE± | 0.9215 | 0.1724 |

**2. อัตราการเลี้ยงรอด**

ผลการทดลองเสริมสังกะสีอินทรีย์ (zinc amino acid complex) และอนินทรีย์ที่ระดับต่างๆ กันในอาหารไก่ไข่ พบว่าอัตราการเลี้ยงรอดมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดย กลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมสังกะสีอินทรีย์ที่ระดับ 40, 80 และ 120 มก./กก และกลุ่มที่เสริมสังกะสีอนินทรีย์ที่ระดับ 120 มก./กก มีอัตราการเลี้ยงรอดเฉลี่ยเท่ากับ 99.17, 99.44, 100.00, 99.44 และ 99.72 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

**3. อัตราการให้ผลผลิตไข่ต่อจำนวนจำนวนแม่ไก่มีชีวิต (hen-day egg production) และอัตราการให้ผลผลิตไข่ต่อจำนวนแม่ไก่เมื่อเริ่มการทดลอง (hen-house egg production)**

ผลการทดลองเสริมสังกะสีที่ระดับต่างๆ ในอาหารไก่ไข่ พบว่ามีแนวโน้มทำให้อัตราการให้ผลผลิตไข่ต่อจำนวนแม่ไก่มีชีวิตสูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P=0.1052$) โดยพบว่ากลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริมสังกะสีอินทรีย์ที่ระดับ 40, 80 และ 120 มก./กก และกลุ่มที่ได้รับการเสริมสังกะสีอนินทรีย์ที่ระดับ 120 มก./กก มีอัตราการให้ผลผลิตไข่ต่อจำนวนแม่ไก่มีชีวิตเฉลี่ยเท่ากับ 72.07, 73.79, 75.70, 77.31 และ 78.85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 7) และส่งผลให้อัตราการให้ผลผลิตไข่ต่อจำนวนแม่ไก่เริ่มการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งมีค่าเท่ากับ 71.35, 73.35, 75.67, 76.26 และ 78.61 เปอร์เซ็นต์

ตามลำดับ (ตารางที่ 8) แสดงให้เห็นว่าการเสริมสังกะสีจากทั้ง 2 แหล่งในสูตรอาหารไก่ไข่ที่ระดับสูงขึ้นสามารถส่งผลในการช่วยปรับปรุงสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสังกะสีช่วยให้ไก่ไข่มีสุขภาพที่แข็งแรงขึ้น โดยสังกะสีจะเป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส ซึ่งมีคุณสมบัติในการกำจัดอนุมูลอิสระโดยช่วยเปลี่ยนซูเปอร์ออกไซด์ แรดิเคิล ไปเป็นไฮโดรเจน เปอร์ออกไซด์ จากนั้นมีเอนไซม์คาตาเลสและเอนไซม์กลูทาไธโอน เปอร์ออกซิ-เดสมากำจัดไฮโดรเจน เปอร์ออกไซด์ไปเป็นน้ำ เพื่อป้องกันการเกิดออกซิเดชั่นของไขมันทำให้การถูกทำลายของเยื่อหุ้มเซลล์อันเนื่องมาจากอนุมูลอิสระเกิดได้ลดลง จึงไม่ก่อให้เกิดการเสียสภาพของเซลล์ (ปนัดดา, 2546) สังกะสีช่วยลดความเครียดอันเนื่องมาจากการสร้างผลผลิต ลดการเกิดความเสียหายของเซลล์ในร่างกาย และช่วยรักษาโครงสร้างของอวัยวะ ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างฟองไข่ทำให้ไก่ไข่มีสุขภาพดี ส่งผลให้อัตราการให้ผลผลิตไข่ดีขึ้น (Taylor and Bray, 1991) สอดคล้องกับการราย งานของ NRC (1994) ที่รายงานว่า สังกะสีช่วยเพิ่มการให้ผลผลิตไข่เปอร์เซ็นต์การฟักออกเป็นตัวของไก่ไข่และไก่แม่พันธุ์ อีกทั้งสังกะสีจะช่วยทำให้ความสมบูรณ์พันธุ์และการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์ดีขึ้น ดังนั้นการเสริมสังกะสีในอาหารมากกว่าความต้องการที่แนะนำอาจส่งผลให้อัตราการให้ผลผลิตไข่เพิ่มขึ้นได้

**ตารางที่ 7** ผลของการเสริมสังกะสีอินทรีย์ ต่ออัตราการให้ผลผลิตไข่ต่อจำนวนจำนวนแม่ไก่มีชีวิตและอัตราการให้ผลผลิตไข่ต่อจำนวนแม่ไก่เริ่มการทดลอง

| กลุ่มทดลอง | อัตราการให้ผลผลิตไข่ต่อจำนวนจำนวนแม่ไก่มีชีวิต (เปอร์เซ็นต์) | อัตราการให้ผลผลิตไข่ต่อจำนวนแม่ไก่เริ่มการทดลอง (เปอร์เซ็นต์) |
|---|---|---|
| อาหารพื้นฐาน | 72.07 | 71.35 |
| อาหารพื้นฐาน + 40 มก./กก | 73.79 | 73.35 |
| อาหารพื้นฐาน + 80 มก./กก | 75.70 | 75.67 |
| อาหารพื้นฐาน + 120 มก./กก | 77.31 | 76.26 |
| อาหารพื้นฐาน + 120 มก./กก | 78.85 | 78.61 |
| P-value | 0.1052 | 0.5815 |
| Pool SE± | 0.8594 | 1.4342 |

**4. ปริมาณอาหารที่กินต่อผลผลิตไข่ 1 โหล และมวลไข่เฉลี่ย**

ผลการทดลองเสริมสังกะสีที่ระดับต่างๆ ในอาหารไก่ไข่ พบว่าปริมาณอาหารที่กินต่อผลผลิตไข่ 1 โหล มีแนวโน้มลดลงตามระดับของสังกะสีที่เพิ่มขึ้นในอาหาร (P=0.1018) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมสังกะสีอินทรีย์ที่ระดับ 40, 80, 120 มก./กก และกลุ่มที่ได้รับการเสริมสังกะสีอนินทรีย์ที่ระดับ 120 มก./กก มีปริมาณอาหารที่กินต่อผลผลิตไข่ 1 โหล เท่ากับ 2.16, 2.00, 1.93,1.93 และ 1.90 กก./ตัว (ตารางที่ 8) ทั้งนี้เนื่องจากไก่ไข่ทุกกลุ่มมีปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวันที่ไม่แตกต่างกัน แต่มีแนวโน้มการให้ผลผลิตไข่เพิ่มขึ้นตามระดับของสังกะสีที่เพิ่มในสูตรอาหาร จึงส่งผลให้ปริมาณอาหารที่กินต่อผลผลิตไข่ 1 โหลมีแนวโน้มลดลง อย่างไรก็ตาม พบว่ามวลไข่เฉลี่ยของทุกกลุ่มไม่แตกต่างกันโดยกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมสังกะสีอินทรีย์ที่ระดับ 40, 80, 120 มก./กก และกลุ่มที่ได้รับการเสริมสังกะสีอนินทรีย์ที่ระดับ 120 มก./กก มีค่ามวลไข่เฉลี่ยเท่ากับ 43.36, 48.99, 50.26, 52.90 และ 55.97 กรัม/ตัว/วัน (ตารางที่ 8)

**ตารางที่ 8** ผลของการเสริมสังกะสีอินทรีย์ ต่อปริมาณอาหารที่กินต่อผลผลิตไข่ 1 โหล และมวลไข่เฉลี่ย

| กลุ่มทดลอง | ปริมาณอาหารที่กินต่อผลผลิตไข่ 1 โหล (กก./ตัว) | มวลไข่เฉลี่ย |
|---|---|---|
| อาหารพื้นฐาน | 2.16 | 43.36 |
| อาหารพื้นฐาน + 40 มก./กก | 2.00 | 48.99 |
| อาหารพื้นฐาน + 80 มก./กก | 1.93 | 50.26 |
| อาหารพื้นฐาน + 120 มก./กก | 1.93 | 52.90 |
| อาหารพื้นฐาน + 120 มก./กก | 1.90 | 55.97 |
| P-value | 0.1018 | 0.3842 |
| Pool SE± | 0.0342 | 2.0332 |

**ผลของการเสริมแร่ธาตุสังกะสีอินทรีย์ต่อคุณภาพไข่**

**1. น้ำหนักไข่เฉลี่ย และสีไข่แดง**

ผลการทดลองเสริมสังกะสีอินทรีย์และอนินทรีย์ที่ระดับต่างๆ ในอาหารไก่ไข่ พบว่าน้ำหนักไข่เฉลี่ยและสีไข่แดงของทุกกลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมสังกะสีอินทรีย์ที่ระดับ 40, 80 และ 120 มก./กก และกลุ่มที่เสริมสังกะสีอนินทรีย์ที่ระดับ 120 มก./กก มีน้ำหนักไข่เฉลี่ย เท่ากับ 66.37, 66.09, 65.70, 65.97 กรัม/ฟอง ตามลำดับ ด้านความเข้มของสีไข่แดงเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 7.12, 7.23, 7.46, 7.16 และ 7.27 ตามลำดับ (ตารางที่ 9) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Mabe *et al.* (2003) ที่ทำการทดลองเสริมสังกะสีอินทรีย์และอนินทรีย์ในอาหารไก่ไข่พันธุ์อีซ่าบราวน์ที่อายุ 32-45 สัปดาห์ พบว่ากลุ่มที่ได้รับสังกะสีอินทรีย์และอนินทรีย์ที่ระดับ 60 มก./กก. ส่งผลให้น้ำหนักไข่เฉลี่ยแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากอาหารทุกกลุ่มมีคุณค่าทางโภชนะใกล้เคียงกัน และการเสริมสังกะสีที่ระดับต่างๆ กันนั้นไม่มีผลกระทบต่อปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวัน ส่งผลให้ไก่ไข่ทุกกลุ่มได้รับสารอาหารในปริมาณใกล้เคียงกัน จึงไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของไข่ไก่

**ตารางที่ 9** ผลของการเสริมสังกะสีอินทรีย์ ต่อน้ำหนักไข่เฉลี่ยและสีไข่แดง

| กลุ่มทดลอง | น้ำหนักไข่เฉลี่ย (กรัม/ฟอง) | สีไข่แดง (คะแนน) |
|---|---|---|
| อาหารพื้นฐาน | 66.37 | 7.12 |
| อาหารพื้นฐาน + 40 มก./กก | 66.09 | 7.23 |
| อาหารพื้นฐาน + 80 มก./กก | 65.70 | 7.46 |
| อาหารพื้นฐาน + 120 มก./กก | 65.97 | 7.16 |
| อาหารพื้นฐาน + 120 มก./กก | 65.80 | 7.27 |
| P-value | 0.8350 | 0.3980 |
| Pool SE± | 0.1932 | 0.0578 |

**2. ความสูงไข่ขาวและค่าฮอฟ์ยูนิต (Haugh unit)**

ผลการทดลองเสริมสังกะสีที่ระดับต่างๆ ในอาหารไก่ไข่ พบว่าส่งผลให้ค่าความสูงไข่ขาวมีแนวโน้มสูงขึ้น (P=0.1128) ตามระดับสังกะสีที่เพิ่มขึ้นในสูตรอาหาร โดยกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมสังกะสีอินทรีย์ที่ระดับ 40, 80 และ 120 มก./กก และกลุ่มที่เสริมสังกะสีอนินทรีย์ที่ระดับ 120 มก./กก มีค่าความสูงของไข่ขาวเฉลี่ยเท่ากับ 5.91, 5.89, 6.31, 6.26 และ 6.16 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 10) จึงส่งผลให้ค่าฮอฟ์ยูนิตมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระดับของการเพิ่มของสังกะสีอินทรีย์ในสูตรอาหารด้วย (P=0.0620) โดยมีค่าฮอฟ์ยูนิตเท่ากับ 72.78, 72.71, 75.47, 75.47 และ 74.42 ตามลำดับ (ตารางที่ 10)

**ตารางที่ 10** ผลของการเสริมสังกะสีอินทรีย์ ต่อความสูงไข่ขาวและค่าฮอฟ์ยูนิต

| กลุ่มทดลอง | ความสูงไข่ขาว | ค่าฮอฟ์ยูนิต |
|---|---|---|
| อาหารพื้นฐาน | 5.91 | 72.78 |
| อาหารพื้นฐาน + 40 มก./กก | 5.89 | 72.71 |
| อาหารพื้นฐาน + 80 มก./กก | 6.31 | 75.47 |
| อาหารพื้นฐาน + 120 มก./กก | 6.26 | 75.47 |
| อาหารพื้นฐาน + 120 มก./กก | 6.16 | 74.42 |
| P-value | 0.1128 | 0.0620 |
| Pool SE± | 0.0653 | 0.4113 |

จากผลการทดลองในตารางที่ 10 แสดงให้เห็นว่า การเสริมสังกะสีจากทั้ง 2 แหล่ง ในอาหารไก่ไข่ พบว่าส่งผลให้ค่าความสูงไข่ขาวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และส่งผลให้ค่าฮอฟ์ยูนิตมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ซึ่งค่าฮอฟ์ยูนิตเป็นค่าที่ได้มาจากการเทียบค่าระหว่างน้ำหนักไข่ และความสูงไข่ขาว โดยคำนวณได้จากสมการ $HU = 100 \times \log (H+7.57-1.7W^{0.37})$ เมื่อ HU คือ ค่า ฮอฟ์ยูนิต H คือ ความสูงของไข่ขาว (มิลลิเมตร) และ W คือ น้ำหนักฟองไข่ (กรัม) การใช้ค่าความสูงไข่ขาวและน้ำหนักฟองไข่มาคำนวณเพื่อเป็นการปรับความแตกต่างของน้ำหนักไข่ เนื่องจากความสูงไข่ขาวมีความสัมพันธ์กับน้ำหนักไข่ (Eisen *et al*., 1962) จากการทดลองในครั้งนี้ พบว่าน้ำหนักไข่เฉลี่ยของไข่ไก่ทุกกลุ่มมีค่าใกล้เคียงกัน แต่ไก่ไข่กลุ่มที่ได้รับการเสริมสังกะสีในระดับที่สูงขึ้นในอาหารมีแนวโน้มที่จะให้ค่าความสูงไข่ขาวสูงขึ้นตามระดับของสังกะสีที่เพิ่มขึ้นในสูตรอาหาร จึงส่งผลให้ค่าฮอฟ์ยูนิตที่ได้จากการคำนวณมีค่าสูงขึ้นตามไปด้วย ทั้งนี้เนื่องจากสังกะสีเป็นโคแฟคเตอร์ของ

เอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิกและโปรตีน (Axe, 1997) เช่น DNA polymerase, DNA-dependent RNA polymerase, deoxyribonucleotidyl transferase และ aminoacyl tRNA synthetase (Zalewski, 1996) อาจส่งผลให้ไก่ไข่กลุ่มที่ได้รับการเสริมสังกะสีจากทั้ง 2 แหล่ง มีผลให้การทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์โปรตีนให้สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้ จึงมีผลในการเพิ่มการสังเคราะห์ปริมาณของโปรตีนในระดับที่เพียงพอต่อการให้ผลิตไข่ ซึ่งระดับของโปรตีนที่ไก่ไข่ได้รับจากอาหารจะส่งผลโดยตรงต่อการสร้างโปรตีนในไข่ขาวภายในฟองไข่ (Tan *et al.*, 1988) ดังนั้นเมื่อไก่ไข่ได้รับโปรตีนที่เพียงพอต่อการให้ผลผลิต แสดงให้เห็นว่าไก่ไข่สามารถนำโปรตีนที่ได้รับจากอาหารไปใช้ในการสังเคราะห์เป็นโปรตีนในไข่ขาวได้ดี จึงส่งผลให้ไก่ไข่กลุ่มที่ได้รับการเสริมสังกะสีมีแนวโน้มในการสร้างโปรตีนไข่ขาวได้เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

**3. ค่าความถ่วงจำเพาะและความหนาเปลือกไข่**

ผลการทดลองเสริมสังกะสีอินทรีย์และอนินทรีย์ที่ระดับต่างๆ ในอาหารไก่ไข่ พบว่าค่าความถ่วงจำเพาะ และความหนาของเปลือกไข่มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมสังกะสีอินทรีย์ที่ระดับ 40, 80 และ 120 มก./กก และกลุ่มที่เสริมสังกะสีอนินทรีย์ที่ระดับ 120 มก./กก มีค่าความถ่วงจำเพาะเฉลี่ยเท่ากับ 1.085, 1.085, 1.084, 1.085 และ 1.086 ตามลำดับ และความหนาของเปลือกไข่เฉลี่ยเท่ากับ 0.38, 0.37, 0.37, 0.38 และ 0.38 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 11)

**ตารางที่ 11** ผลของการเสริมสังกะสีอินทรีย์ ต่อความถ่วงจำเพาะและความหนาเปลือกไข่

| กลุ่มทดลอง | ความถ่วงจำเพาะ | ความหนาเปลือกไข่ (มม.) |
|---|---|---|
| อาหารพื้นฐาน | 1.085 | 0.38 |
| อาหารพื้นฐาน + 40 มก./กก | 1.085 | 0.37 |
| อาหารพื้นฐาน + 80 มก./กก | 1.084 | 0.37 |
| อาหารพื้นฐาน + 120 มก./กก | 1.085 | 0.38 |
| อาหารพื้นฐาน + 120 มก./กก | 1.086 | 0.38 |
| P-value | 0.1856 | 0.6390 |
| Pool SE± | 0.0002 | 0.0026 |

ผลจากตารางที่ 11 แสดงให้เห็นว่า การเสริมสังกะสีที่ระดับต่างๆ ส่งผลให้ค่าความถ่วงจำเพาะและความหนาของเปลือกไข่ของทุกกลุ่มทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) สอดคล้องกับงานทดลองของ Mabe *et al.* (2003) ที่ทำการทดลองเสริมสังกะสีอินทรีย์และอนินทรีย์ในอาหารไก่ไข่พันธุ์อีซ่าบราวน์ที่อายุ 60-73 สัปดาห์ พบว่ากลุ่มที่ได้รับสังกะสีอินทรีย์และอนินทรีย์ที่ระดับ 60 มก./กก. ส่งผลให้ความหนาเปลือกไข่ น้ำหนักเปลือกไข่ และคุณภาพของไข่มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เช่นเดียวกับงานทดลองของ Gue *et al*. (2006) ที่ทำการทดลองในไก่ไข่พันธุ์ Bovan ที่อายุ 51 สัปดาห์ โดยเสริมสังกะสีอินทรีย์ในรูป zinc amino acid complex และสังกะสีอนินทรีย์ในรูป $ZnSO_4$ ที่ระดับ 40, 80, 120, 160 มก./กก. พบว่าการเสริมสังกะสีที่ระดับต่างๆ จากทั้ง 2 แหล่ง ไม่มีผลในการปรับปรุงคุณภาพของเปลือกไข่และส่งผลให้ความหนาเปลือกไข่มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ความหนาของเปลือกไข่มีความสัมพันธ์กับค่าความถ่วงจำเพาะของไข่ ความหนาของเปลือกไข่ที่มากแสดงถึงความแข็งแรงของฟองไข่ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการจัดการเคลื่อนย้ายไข่และลดเปอร์เซ็นต์การแตกลงได้ ทั้งนี้ปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อความหนาของเปลือกไข่ คือ พันธุกรรม โภชนะช่วงเวลาการให้ไข่ การผลัดขน และสภาพแวดล้อมในโรงเรือน (Tullett, 1987) นอกจากนี้มีการรายงานว่า ไก่ไข่ที่มีอายุมากจะมีความสามารถในการสร้างเปลือกไข่ได้ลดลง เนื่องจากมีปัญหาเรื่องการดูดซึมแคลเซียม ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของเปลือกไข่ คือ แคลเซียมคาร์บอเนต (Chowdhury and Smith, 2001) ยังมีการรายงานเพิ่มว่า พลังงานเป็นโภชนะอย่างหนึ่งที่มีความจำเป็นอย่างยิ่งต่อกระบวนการสร้างเปลือกไข่ (North and Bell, 1990) เมื่อพิจารณาจากสูตรอาหารทดลองในครั้งนี้ พบว่าอาหารทุกสูตรมีระดับของโภชนะต่างๆ ที่ใกล้เคียงกัน ไก่ไข่ทุกกลุ่มมี

ปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวันไม่แตกต่างกัน ส่งผลให้ไก่ไข่ได้รับระดับโภชนะ พลังงาน และสมดุลของแคลเซียม ฟอสฟอรัสในอาหารที่ใกล้เคียงกัน จึงมีผลให้ความหนาเปลือกไข่ และความถ่วงจำเพาะที่มีความสัมพันธ์กับคุณภาพเปลือกไข่ของทุกกลุ่มไม่แตกต่างกัน Nys *et al*. (1999) รายงานว่า สังกะสีเป็นองค์ประกอบของเอนไซม์คาร์บอนิค แอนไฮเดรส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการนำคาร์บอเนต ไอออน ไปสะสมยังเปลือกไข่ในระหว่างที่มีการเกิดกระบวนการสร้างไข่ หากเอนไซม์คาร์บอนิค แอนไฮเดรสถูกยับยั้งจะส่งผลให้มีการปลดปล่อยคาร์บอเนต ไอออนออกมาได้ลดลง ทำให้การสะสมของคาร์บอเนต ไอออนที่เปลือกไข่ในระหว่างการเกิดกระบวนการสร้างเปลือกไข่เกิดได้น้อย ส่งผลให้ ความหนาของเปลือกไข่และน้ำหนักของเปลือกไข่ลดลง ดังนั้นเมื่อไก่ไข่ทุกกลุ่มได้รับโภชนะ พลังงาน และสมดุลของแคลเซียม ฟอสฟอรัสในอาหารที่ใกล้เคียงกัน ส่งผลให้เอนไซม์คาร์บอนิค แอนไฮเดรสนำแคลเซี่ยมไปสร้างเปลือกไข่ได้ไม่แตกต่างกัน จึงส่งผลให้ความหนาเปลือกไข่ของไก่ไข่ทุกกลุ่มไม่แตกต่างกัน

**ผลของการเสริมสังกะสีอินทรีย์ต่อปริมาณสังกะสีในไข่แดง**

ปริมาณสังกะสีในไข่แดงของกลุ่มที่ได้รับการเสริมสังกะสีอินทรีย์ (zinc amino acid complex) ที่ระดับต่างๆ และสังกะสีอนินทรีย์ ($ZnSO_4$) แสดงไว้ใน ตารางที่ 12

**ตารางที่ 12** ผลของการเสริมสังกะสีอินทรีย์ ต่อปริมาณสังกะสีในไข่แดง

| กลุ่มทดลอง | ปริมาณสังกะสีในไข่แดง (มก./กก.) |
|---|---|
| อาหารพื้นฐาน | 36.47 |
| อาหารพื้นฐาน + 40 มก./กก | 36.14 |
| อาหารพื้นฐาน + 80 มก./กก | 36.61 |
| อาหารพื้นฐาน + 120 มก./กก | 36.92 |
| อาหารพื้นฐาน + 120 มก./กก | 37.42 |
| P-value | 0.4222 |
| Pool SE± | 0.2196 |

จากผลการทดลองพบว่า กลุ่มที่ได้รับการเสริมสังกะสีอินทรีย์ในระดับที่ต่างกันและสังกะสีอนินทรีย์ ($ZnSO_4$) ที่ระดับ 120 มก./กก มีผลให้ปริมาณสังกะสีในไข่แดงแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริม

สังกะสีอินทรีย์ที่ระดับ 40, 80 และ 120 มก./กก และกลุ่มที่เสริมสังกะสีอนินทรีย์ที่ระดับ 120 มก./กก. มีปริมาณสังกะสีในไข่แดงเท่ากับ 36.47, 36.14, 36.61, 36.92 และ 37.42 มก./กก. ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Mabe *et al.* (2003) ที่ทำการทดลองเสริมสังกะสีอินทรีย์และอนินทรีย์ในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 60 มก./กก. พบว่าส่งผลให้มีปริมาณสังกะสีในไข่แดงแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (39.71 และ 39.54 มก./กก. ตามลำดับ) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kaya *et al* (2000) ที่พบว่าการเสริมสังกะสีที่ระดับ 50 มก./กก. ในอาหารไก่ไข่ส่งผลให้ปริมาณสังกะสีในไข่แดงไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($P>0.05$) (36.69 และ 34.42 มก./กก. ตามลำดับ) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการสะสมสังกะสีในไข่แดงนั้นอาจมีข้อจำกัดด้านระบบสรีรวิทยาของการสะสมสารอาหารในฟองไข่ ที่ว่าการสะสมของสารอาหารต่างๆ ในไข่แดงนั้น อาจมีผลโดยตรงต่อตัวอ่อน เนื่องจากไข่แดงเป็นแหล่งอาหารสำคัญสำหรับการพัฒนาของตัวอ่อน การเพิ่มปริมาณสังกะสีในฟองไข่ จึงอาจมีกลไกการควบคุมให้มีการสะสมแม้ว่ามีการเสริมสังกะสีในอาหารระดับที่สูงขึ้น แต่สังกะสีในไข่แดงต้องอยู่ในระดับที่เหมาะสม เช่น อาจมีข้อจำกัดของตัวรับเฉพาะที่บริเวณเยื่อหุ้มไข่แดงในการรับสังกะสีเข้าสู่ฟองไข่ไม่ให้มากเกินไป (Grau *et al.*, 1979) จึงมีผลให้การสะสมของสังกะสีในไข่แดงของทุกกลุ่มการทดลองอยู่ในระดับที่ไม่แตกต่างกัน

นอกจากนี้พบว่าการขนส่งสังกะสีในระบบหมุนเวียนโลหิตนั้น 90% ต้องอาศัยโปรตีนเป็นตัวพา คือ อัลบูมิน สังกะสีส่วนที่เหลืออาศัยแอลฟ่า-2-มาโครโกลบูลิน, ทรานสเฟอริน, อิมมูโนโกลบูลิน, ซีสเตอีน และฮีสติดีนเป็นตัวพาจากระบบหมุนเวียนโลหิตขนส่งไปยังตับ จากนั้นสังกะสีจะถูกส่งไปสะสมยังเนื้อเยื่อต่างๆ (Hill and Spears, 2000) ซึ่งการสะสมสังกะสีในไข่แดงนั้นคาดว่าต้องอาศัยโปรตีนตัวพาเช่นเดียวกัน ด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงคาดว่าการสะสมสังกะสีในไข่แดงจึงอาจถูกจำกัดด้วยปริมาณโปรตีนตัวพา อย่างไรก็ตาม พบว่ายังไม่มีข้อมูลที่สนับสนุนความคิดดังกล่าวและต้องการการทำวิจัยเพิ่มเติม ดังนั้นถึงแม้ว่ามีการเสริมสังกะสีในอาหารไก่ไข่เพิ่มขึ้นแต่ปริมาณโปรตีนตัวพามีปริมาณคงที่ จึงไม่ส่งผลในการเพิ่มการสะสมปริมาณสังกะสีในไข่แดง จึงทำให้ปริมาณสังกะสีในไข่แดงของทุกกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน อีกทั้งการเสริมสังกะสีในอาหารนั้นการเกิดปฏิสัมพันธ์ร่วมกันระหว่างสังกะสีกับแร่ธาตุตัวอื่นๆ และองค์ประกอบอื่นๆ เช่น เยื่อใย กรดไฟติกที่มีอยู่ในสูตรอาหาร เช่น ปริมาณของแคลเซี่ยม ซึ่งหากมีระดับสูงในสูตรอาหารจะเกิดการขัดขวางการใช้ประโยชน์ได้ของสังกะสี อาจมีผลให้การดูดซึมสังกะสีและการนำไปใช้ประโยชน์ได้ลดลง (สาโรช, 2547) เป็นผลให้ปริมาณสังกะสีที่จะนำไปสะสมในไข่แดงเกิดได้ลดลงด้วย อีกทั้งการสะสมสังกะสีในไข่แดงของไก่ไข่ทุกกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน

**ผลของการเสริมแร่ธาตุสังกะสีอินทรีย์ต่อการทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส**

กลุ่มที่ได้รับการเสริมสังกะสีที่ระดับ 40, 80 และ 120 มก./กก ในรูป zinc amino acid complex และที่ระดับ 120 มก./กก ในรูป $ZnSO_4$ ต่อการทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิว-เตส แสดงไว้ในตารางที่ 13

**ตารางที่ 13** ผลของการเสริมสังกะสีอินทรีย์ ต่อการทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส

| กลุ่มทดลอง | การทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (เปอร์เซ็นต์)[1] |
|---|---|
| อาหารพื้นฐาน | 91.07 |
| อาหารพื้นฐาน + 40 มก./กก | 90.22 |
| อาหารพื้นฐาน + 80 มก./กก | 92.43 |
| อาหารพื้นฐาน + 120 มก./กก | 93.69 |
| อาหารพื้นฐาน + 120 มก./กก | 92.38 |
| P-value | 0.4176 |
| Pool SE± | 0.1841 |

[1]ค่าเฉลี่ยของการตรวจวัดที่ 1, 30 และ 90 วันของการทดลอง

จากผลการทดลอง พบว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมสังกะสีอินทรีย์ที่ระดับต่างๆ และกลุ่มที่ได้รับการเสริมสังกะสีที่ระดับ 120 มก./กก ส่งผลให้การทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมสังกะสีอินทรีย์ที่ระดับ 40, 80, 120 และกลุ่มที่เสริมสังกะสีอนินทรีย์ที่ระดับ 120 มก./กก พบว่าการทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสเท่ากับ 91.07, 90.22, 92.43, 93.69 และ 92.38 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการทดลองในครั้งนี้ได้ทำภายใต้ระบบการเลี้ยงในโรงเรือนที่มีการระบายอากาศด้วยระบบระเหยไอน้ำ ซึ่งมีการควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์อย่างเหมาะสม และไก่ไข่ทุกกลุ่มการทดลองได้รับการจัดการเลี้ยงดูที่สม่ำเสมอกัน ทำให้ไก่ไข่อยู่ในสภาพแวดล้อมที่สุขสบายเหมือนกัน จึงไม่ทำให้เกิดความเครียด ทำให้ไก่ไข่ทุกกลุ่มมีการสร้างอนุมูลอิสระอยู่ในระดับที่ไม่แตกต่างกัน จึงมีผลให้การทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซม์ ดิสมิเตสของไก่ไข่ทุกกลุ่มการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกัน สอดคล้องกับ

การรายงานของ Stralin and Marklund (1994) ที่ได้รายงานว่า สภาวะความเครียดส่งผลให้มีการสร้างอนุมูลอิสระเกิดขึ้นเป็นจำนวนมาก ซึ่งอนุมูลอิสระเหล่านี้ไปมีผลให้เซลล์ต่างๆ มีการหลั่งสารไซโตไคน์ชนิดอินเตอร์ลูคิน 1 (interlukin-1, IL-1) และอินเตอร์ลูคิน 6 (interlukin-6, IL-6) ออกมา ซึ่งไซโตไคน์ทั้ง 2 ชนิดนี้ไปมีผลในการเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซม์ ดิสมิวเตส

จากผลการทดลองในครั้งนี้ ไก่ไข่ทุกกลุ่มถูกเลี้ยงในโรงเรือนระบบปิดทำให้ไก่ไข่อยู่ในสภาพแวดล้อมที่สุขสบายเหมือนกัน ทำให้ไก่ไข่ทุกกลุ่มมีการสร้างอนุมูลอิสระลดลงจากระดับที่ปกติและมีการสร้างอนุมูลอิสระอยู่ในระดับที่ไม่แตกต่างกัน ส่งผลให้ไก่ไข่ทุกกลุ่มมีการหลั่งสาร IL-1 และ IL-6 ออกมาอยู่ในระดับที่ไม่แตกต่างกัน ดังนั้นไซโตไคน์ทั้ง 2 ชนิดนี้ไปมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซม์ ดิสมิวเตสในการกำจัดอนุมูลอิสระที่ถูกสร้างขึ้นมาไม่มีความแตกต่างกัน อีกทั้งอาหารทุกกลุ่มมีเปอร์เซ็นต์โปรตีนและค่าพลังงานรวมใกล้เคียงกัน จากการทดลองในครั้งนี้ พบว่าไก่ไข่ทุกกลุ่มมีปริมาณการกินได้ของอาหารไม่แตกต่างกัน ทำให้ไก่ไข่ทุกกลุ่มได้รับสารอาหารในปริมาณใกล้เคียงกันอาจมีผลให้ไก่ไข่ทุกกลุ่มมีการนำโปรตีนจากอาหารที่กินเข้าไปและนำสร้างโปรตีนสำหรับการสร้างเป็นเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิเตสได้ไม่แตกต่างกัน จึงไม่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส สอดคล้องกับการรายงานของ Olin *et al*. 1995 ที่รายงานว่า การทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส ขึ้นอยู่กับปริมาณของสังกะสีที่มีอยู่ในอาหาร ปริมาณการกินได้ของสัตว์ ปริมาณแร่ธาตุสังกะสีที่สัตว์ได้รับ และความเข้มข้นของสังกะสีที่มีอยู่ในพลาสม่าหรือซีรั่ม ซึ่งการขาดสังกะสีมีผลให้ความเข้มข้นของสังกะสีที่มีอยู่ในพลาสม่าลดลงอย่างเห็นได้ชัดเจน ซึ่งสังกะสีมีบทบาทต่อการทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซม์ ดิสมิวเตส เนื่องจากสังกะสีเป็นองค์ประกอบของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซม์ ดิสมิวเตส 2 อะตอม เมื่อขาดสังกะสีหรือความเข้มข้นของสังกะสีที่มีอยู่ในพลาสม่าลดลงจึงมีผลให้การทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสลดลงมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์

**ผลของการเสริมแร่ธาตุสังกะสีอินทรีย์ ต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจงของไก่ไข่**

ผลของการเสริมสังกะสีที่ระดับ 40, 80 และ 120 มก./กก.ในรูป zinc amino acid complex และที่ระดับ 120 มก./กก ในรูป $ZnSO_4$ ต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของไก่ไข่ พบว่าระดับไตเตอร์รวมภายหลังจากการกระตุ้นด้วยเม็ดเลือดแดงแกะที่ 7 และ 14 วันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดยระดับไตเตอร์รวมภายหลังการกระตุ้นด้วยเม็ดเลือดแดงแกะที่ 14 วัน มีค่าสูงกว่าที่ 7 วัน อีกทั้งการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันภายหลังจากการกระตุ้นด้วยเซลล์เม็ดเลือดแดงแกะ (sheep red blood cell, SRBC) ที่ 7 วัน พบว่าส่งผลให้กลุ่มที่ได้รับการเสริมสังกะสีอินทรีย์ที่ระดับ 80 และ 120 มก./กก และกลุ่มที่เสริมสังกะสีอนินทรีย์ที่ระดับ 120 มก./กก มีระดับไตเตอร์รวมไม่แตกต่างกัน แต่สูงกว่าขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมสังกะสีอินทรีย์ที่ระดับ 80, 120 มก./กก และกลุ่มที่เสริมสังกะสีอนินทรีย์ที่ระดับ 120 มก./กก มีระดับไตเตอร์รวมเท่ากับ 10.17, 10.25, 11.38 และ 10.67 มก./มล. ตามลำดับ มีแอนติบอดีชนิด IgM เท่ากับ 5.41, 7.23, 7.73, 8.96 และ 7.67 มก./มล. และ แอนติบอดีชนิด IgG เท่ากับ 3.75, 2.45, 2.29, 1.99 และ 2.28 มก./มล. ตามลำดับ ในขณะที่การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันหลังการกระตุ้นด้วย SRBC ครั้งที่ 2 (ที่14 วันหลังจากการกระตุ้นครั้งแรก) พบว่าส่งผลให้กลุ่มที่ได้รับการเสริมสังกะสีอินทรีย์ที่ระดับ 40, 80 และ 120 มก./กก และกลุ่มที่เสริมสังกะสีอนินทรีย์ที่ระดับ 120 มก./กก มีระดับไตเตอร์รวมแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ซึ่งมีเท่ากับ 10.58, 11.17, 11.04, 11.71 และ 11.42 มก./มล. ตามลำดับ โดยแบ่งเป็นแอนติบอดีชนิด IgM เท่ากับ 3.98, 3.06, 2.27, 2.03 และ 3.03 มก./มล. ตามลำดับ เป็นแอนติบอดีชนิด IgG เท่ากับ 6.23, 8.07, 7.80, 9.54 และ 8.21 มก./มล.ตามลำดับ (ตารางที่ 14) การเสริมสังกะสีในระดับต่างๆ ต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันภายหลังการกระตุ้นด้วย SRBC พบว่าระดับไตเตอร์รวมภายหลังการกระตุ้นด้วย SRBC ครั้งแรกของกลุ่มที่ได้รับการเสริมสังกะสีอินทรีย์ที่ระดับ 80 และ 120 มก./กก มีค่าสูงขึ้น อาจเป็นผลเนื่องมาจากปริมาณแอนติบอดี้ชนิด Immunoglobulin M (IgM) ซึ่งเป็นแอนติบอดีชนิดแรกที่ถูกสร้างขึ้นเมื่อได้รับแอนติเจนเป็นครั้งแรกมีปริมาณเพิ่มขึ้น ส่วนการเพิ่มขึ้นของแอนติบอดี้ภายหลังจากการกระตุ้นครั้งแรกที่ 14 วัน อาจเป็นผลเนื่องมาจากการเพิ่มของแอนติบอดีชนิด Immunoglobulin G (IgG) ซึ่งเป็นแอนติบอดีชนิดที่มีปริมาณมากที่สุดในซีรั่ม ซึ่งถูกสร้างขึ้นมามากที่สุดเมื่อได้รับแอนติเจนเป็นครั้งที่ 2 (ทัศนีย์, 2541; Tizard, 2004)

จากการทดลองในครั้งนี้ พบว่าการเพิ่มขึ้นของระดับไตเตอร์รวมนั้น อาจเนื่องจากการเสริมสังกะสีในรูปสังกะสีอินทรีย์ลงในอาหารมีผลให้สัตว์สามารถดูดซึมและนำสังกะสีไปใช้ประโยชน์

ได้ดีขึ้น เนื่องจากแร่ธาตุอินทรีย์หรือคีเลทมีความเสถียรในทางเดินอาหารสามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงของความเป็นกรด-ด่างในช่วงกว้างๆ ได้ และมีความเป็นกลางทางไฟฟ้า จึงไม่สร้างสารประกอบกับองค์ประกอบอื่นในอาหารที่มีผลให้การดูดซึมลดลง สาโรช (2547) รายงานว่า สังกะสีอินทรีย์เป็นสารประกอบคีเลท ซึ่งมีประจุไฟฟ้าสุทธิเป็นกลาง จึงไม่เข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่นๆ ในทางเดินอาหาร และถูกดูดซึมเข้าระบบของร่างกายโดยกลไกการดูดซึมระบบอื่น ไม่ถูกแก่งแย่งหรือขัดขวางการดูดซึมโดยระบบการดูดซึมแร่ธาตุ อีกทั้งสังกะสีในรูปสารอินทรีย์สามารถละลายได้ดี ณ ตำแหน่งที่มีการดูดซึมและมีการดูดซึมผ่านผนังลำไส้เข้าไปได้พร้อมกับกรดอะมิโนในรูปของสารประกอบที่คล้ายเปปไทด์ จึงช่วยเพิ่มระดับการใช้ประโยชน์ได้ของแร่ธาตุสังกะสีได้สูงขึ้น สอดคล้องกับงานทดลองของ Gue *et al*. (2006) ที่ทำการทดลองในไก่ไข่พันธุ์ Bovan ที่อายุ 51 สัปดาห์ โดยเสริมสังกะสีอินทรีย์ในรูป zinc amino acid complex และสังกะสีอนินทรีย์ในรูป $ZnSO_4$ ที่ระดับ 40, 80, 120 และ 160 มก./กก. พบว่าไก่ไข่กลุ่มที่ได้รับการเสริมสังกะสีอินทรีย์ที่ระดับ 80 มก./กก. ส่งผลให้การสร้างแอนติบอดี้เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับการเสริมสังกะสีในรูปอนินทรีย์ที่ระดับ 80 มก./กก.

Beach *et al*. (1980) และ Donker *et al*. (1990) ทำการทดลองเสริมสังกะสีลงในอาหารไก่เนื้อ พบว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมสังกะสีมีแนวโน้มในการเพิ่มความสามารถในการสร้างแอนติบอดี้ของไก่เนื้อ สอดคล้องกับ Cardoso *et al*. (2006) ที่ศึกษาการเสริมสังกะสีในอาหารไก่เนื้อ 3 ระดับ คือ 0, 40 และ 400 มก./กก. ในอาหารพื้นฐานข้าวโพด-กากถั่วเหลือง พบว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมสังกะสีลงในอาหารในระดับสูง (400 มก./กก.) มีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันหลังการกระตุ้นด้วยวัคซีนนิวคาสเซิลวันที่ 28 และ 35 สูงขึ้น เนื่องจากการเสริมสังกะสี มีส่วนช่วยกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของที ลิมโฟไซต์และ บี ลิมโฟไซต์รวมทั้งเพิ่มจำนวนไซโตไคน์ชนิด IFN-γ ซึ่งเป็นไซโตไคน์ที่ไปมีผลให้ บี ลิมโฟไซต์ เปลี่ยนแปลงเป็นพลาสมาเซลล์ จากนั้นพลาสมาเซลล์จะสร้างอิมมูโนโกลบูลินเพิ่มสูงขึ้น จึงมีผลให้ระดับไตเตอร์รวมสูงขึ้น Kincaid *et al.* (1997) รายงานว่า สังกะสีมีความจำเป็นสำหรับภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ มีผลต่อการทำงานของภูมิคุ้มกันชนิด บี ลิมโฟไซต์ และการรักษาเซลล์เม็ดเลือดขาว การขาดสังกะสีมีผลต่อ ที ลิมโฟไซต์ การทดลองใช้สังกะสีในระดับสูงในหลอดทดลอง (*in vitro*) พบว่า ช่วยกระตุ้นการทำงานของ natural killer cells (NK cell) สังกะสีมีความจำเป็นสำหรับภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ และระบบป้องกันตัวของโฮสต์ (Hill and Spears, 2000) มีบทบาทในการรักษาเซลล์เม็ดเลือดขาว (lymphoid cell) และต้านทานต่อการติดเชื้อบางชนิด (Kidd *et al*., 1996)

**ตารางที่ 14** ผลของการเสริมแร่ธาตุสังกะสีอินทรีย์ ต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจง

| กลุ่มทดลอง | การตอบสนองหลังการกระตุ้นครั้งแรก (7 วัน) | | | การตอบสนองหลังการกระตุ้นครั้งที่ 2 (14 วัน) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Total Immunoglobulin | Immunoglobulin M (IgM) (มก./มล.) | Immunoglobulin G (IgG) (มก./มล.) | Total Immunoglobulin | Immunoglobulin M (IgG) (มก./มล.) | Immunoglobulin G (IgG) (มก./มล.) |
| อาหารพื้นฐาน | 10.17$^{ข}$ | 5.41$^{ก}$ | 3.75$^{ก}$ | 10.58 | 3.98$^{ก}$ | 6.23$^{ก}$ |
| อาหารพื้นฐาน + 40 มก./กก | 10.00$^{ข}$ | 7.23$^{ข}$ | 2.45$^{ข}$ | 11.17 | 3.06$^{ข}$ | 8.07$^{ข}$ |
| อาหารพื้นฐาน + 80 มก./กก | 10.25$^{กข}$ | 7.73$^{กข}$ | 2.29$^{ข}$ | 11.04 | 2.27$^{ก}$ | 7.80$^{ข}$ |
| อาหารพื้นฐาน + 120 มก./กก | 11.38$^{ก}$ | 8.96$^{ก}$ | 1.99$^{ข}$ | 11.71 | 2.03$^{ก}$ | 9.54$^{ก}$ |
| อาหารพื้นฐาน + 120 มก./กก | 10.67$^{กข}$ | 7.67$^{กข}$ | 2.28$^{ข}$ | 11.42 | 3.03$^{ข}$ | 8.21$^{กข}$ |
| P-value | 0.0515 | 0.0001 | 0.0001 | 0.1497 | 0.0001 | 0.0005 |
| Pool SE± | 0.146 | 0.2395 | 0.1148 | 0.1462 | 0.1146 | 0.2522 |

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

# สรุปผลการทดลอง

จากผลการเสริมสังกะสีที่ระดับ 40, 80 และ 120 มก./กก. ในรูป zinc amino acid และที่ระดับ 120 มก./กก. ในรูป $ZnSO_4$ ในอาหารไก่ไข่ สามารถสรุปได้ดังนี้

1. การเสริมสังกะสีอินทรีย์ที่ระดับต่างๆ และการเสริมสังกะสีอนินทรีย์ที่ระดับ 120 มก./กก. ส่งผลให้อัตราการให้ผลผลิตไข่ต่อจำนวนแม่ไก่มีชีวิตมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นและปริมาณอาหารที่ใช้ในการผลิตไข่ 1 โหล พบว่ามีแนวโน้มลดลงตามระดับการเพิ่มขึ้นของสังกะสีในสูตรอาหาร

2. การเสริมสังกะสีที่ระดับต่างๆ และการเสริมสังกะสีอนินทรีย์ที่ระดับ 120 มก./กก. ส่งผลให้ความสูงไข่ขาวและค่าฮอฟยูนิตมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระดับการเพิ่มขึ้นของสังกะสีอินทรีย์ในสูตรอาหาร

3. การเสริมสังกะสีอินทรีย์ที่ระดับต่างๆ และการเสริมสังกะสีอนินทรีย์ที่ระดับ 120 มก./กก. ไม่มีผลต่อปริมาณสังกะสีในไข่แดง

4. การเสริมสังกะสีอินทรีย์ที่ระดับต่างๆ และการเสริมสังกะสีอนินทรีย์ที่ระดับ 120 มก./กก. ไม่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส

5. การเสริมสังกะสีอินทรีย์ที่ระดับ 80 และ 120 มก./กก. ส่งผลให้ระดับไตเตอร์รวมหลังการกระตุ้นด้วยเซลล์เม็ดเลือดแดงแกะครั้งแรกสูงกว่ากลุ่มควบคุม แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับการเสริมสังกะสีอนินทรีย์ที่ระดับ 120 มก./กก.

# ข้อเสนอแนะ

1. การใช้สังกะสีในอาหารไก่ไข่นั้น ควรคำนึงถึงความเหมาะสมในการใช้ โดยพิจารณาจากสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ที่เลี้ยงและอาหารที่ใช้ แม้ว่าสัตว์สามารถดูดซึมแร่ธาตุสังกะสีได้ดี แต่ยังไม่สามารถใช้ประโยชน์จากแร่ธาตุสังกะสีที่ดูดซึมเข้าไปได้ทั้งหมด และหากมีการเสริมสังกะสีที่มากเกินไปอาจมีผลกระทบต่อการใช้ประโยชน์ได้ของแร่ธาตุตัวอื่นๆ ได้ซึ่งส่งผลเสียต่อกระบวนการทางชีวเคมีในร่างกายของสัตว์ รวมทั้งอาจมีผลในการเพิ่มการขับออกของสังกะสีออกมาทางมูลในปริมาณที่เพิ่มขึ้น จึงมีผลเสียต่อสภาพแวดล้อมได้

2. ในการทดลองครั้งนี้ไม่ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณสังกะสีในมูล เพื่อวิเคราะห์ปริมาณของสังกะสีที่ถูกขับออกมาทางมูล หากมีการเสริมสังกะสีในอาหารระดับสูงแล้วมีการขับสังกะสีออกมาทางมูลในปริมาณที่สูง แสดงว่าไก่ไข่มีการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้จากสังกะสีน้อยลง ดังนั้นควรทำการวิเคราะห์ปริมาณสังกะสีในมูลด้วย เพื่อประเมินการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของสังกะสีในไก่ไข่ที่แท้จริง

# เอกสารและสิ่งอ้างอิง


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

ปนัดดา โรจน์พิบูลสถิต. 2546. **ชีวเคมีทางการแพทย์: เมตาบอลิสมของสารอาหารเชิงบูรณาการ**. สาขาชีวเคมี สถานวิทยาศาสตร์พรีคลินิก คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, กรุงเทพฯ.

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

พิสิฐ วงศ์วัฒนะ. 2547. **วิตามิน**. สำนักพิมพ์หมอชาวบ้าน, กรุงเทพฯ.

พันทิพา พงษ์เพียจันทร์. 2543. **แร่ธาตุ: หลักการอาหารสัตว์ เล่ม 1 โภชนะ.** ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

พรทิพย์ วิรัชวงศ์. 2549. **อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ.** วิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์. แหล่งที่มา: http://www.gpo.or.th/rdi/html/antioxidants.html, 22 พฤศจิกายน 2549.

สาโรช ค้าเจริญ. 2547. **อาหารและการให้อาหารสัตว์ไม่เคี้ยวเอื้อง**. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

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

อาวุธ ตันโช. 2538. **การผลิตสัตว์ปีก**. ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

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

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

AAFCO. 1997. **Feed Ingredients Definition**, p. 165. *in* E. Hass, ed. Official Publication. Am. Assoc. Feed Control Offic., Harrisburg.

Abbas, A.K. and A.H. Lichtman. 2003. **Cellular and Molecular Immunology.** Elsevier Science, Philadelphia.

AOAC. 1990. **Official Methods of Analysis.** 15th ed. Association of Official; Analytical Chemists, Inc., Arlington, VA.

_____. 2000. **Official methods of analysis**. 17th ed. Association of Official; Analytical Chemists, Int., Arlington, VA.

Axe, D.E. 1997. **Microingredients for the Feed Industry. Manager, Technical Services and Marketing IMC-Agrico Feed Ingredients**. Bannockburn, Illinois.

Bartlett, J.R. and M.O. Smith. 2003. Effect of different level of zinc on the permormance and immunocompetence of broilers under heat stress. **Poult. Sci**. 82: 1580-1588.

Batal, A.B., T.M. Parr, and D.H. Baker. 2001. Zinc bioavailability in tetrabasic zinc chloride and the dietary zinc requirement of young chicks fed a soy concentrate diet. **Poult. Sci**. 80: 87-90.

Beach, R.H., M.E. Gershwin and L.S. Hurley. 1980. Impaired immunological ontogeny in postnatal zinc deprivation. **J. Nutr.** 110: 805-810.

Brody, T. 1994. **Nutritional Biochemistry**. Academic Press, Inc., San Diego, California.

Cardoso, ALSP., R. Albuquerque and T. ENC. 2006. Humoral immunological response in broilers vaccinated against Newcastle disease and supplemented with dietary zinc and vitamin E. **Poult. Sci.** 8: 99-103.

Chowdhury, S.R. and T.K. Smith. 2001. Effects of dietary 1,4-diaminobutane (putresaine) on eggshell quality and laying performance of hens laying thin-shelled eggs. **Poult. Sci**. 80: 1702-1709.

Church, D.C. and W.G. Pond. 1988. **Basic Animal Nutrition and Feeding**. 3th ed. John Wiley & Sons, Inc. Canada.

Donker, R.A., M.G.B. Nieuwland and A.J. Zijpp. 1990. Heat-stress influences on antibody production in chicken lines selected for high and low immune responsiveness **Poult. Sci.** 69: 599-607.

Eisen, E.J., B. B. Rohrenand H.E. McKean. 1962. The Haugh unit as a measure of egg albumen quality. **Poult. Sci**. 41: 1461-1468.

Greater, P.A., J.C.F. Padilha and S. Guillaumin. 1996. Metabolic and endocrine chances induced by chronic heat exposure in broiler chickens: growth performance, body composition and energy retention. **Brit. J. Nutr**. 75: 195-204.

Grau, C.R., T.E. Roudybush and W.H. McGibbon. 1979. Mineral composition of yolk fractions and whole yolk from eggs of restricted ovulator hens. **Poult Sci.** 58: 1143-1148.

Greengard, O., A. Sentenac and N. Mendelsohn. 1964. Phosvitin, the iron carrier of egg yolk. **Biochim. Biophys. Acta.** 90: 406-407.

Guo, Y.M., R. Yung, J. Yuan, T.L. Ward and T.M. Fakler. 2006. **Effect of availa –Zn and zinc sulfate on egg zinc concentration, laying performance and egg quality**. Bioavailability, Chiangmai, Thailand.

Hill, G.M. and J.W. Spears. 2000. **Trace and ultratrace elements in swine nutrition**, pp. 229-262. *in* A.J. Lewis and L.L. Southen, eds. Swine Nutrition. CRC Press, New York.

Johnson, A. L. and A. van Tienhoven. 1980. Plasma concentrations of six steroids and LH during the ovulatory cycle of the hen (*Gallus domesticus*). **Biol. Reprod**. 23: 386-393.

Kaya, S., H.D. Umucalilar, S. Haliloglu and H. Ipek. 2000. Effect of dietary vitamin A and zinc on egg yield and some blood parameters of laying hens. **J. Vet. Anim. Sci**. 25: 763-769.

Kidd, M.T., N.B. Anthony and S.R. Lee. 1992. Progeny performance when dams and chicks are fed supplemental zinc. **Poult. Sci**. 71: 1201-1206.

_____, P.R. Ferket and M. A. Qureshi. 1996. Zinc metabolism with special reference to its role in immunity. **World's Poult. Sci.** 52: 309-324.

Kim, W.K. and P.H.Patterson. 2005. Effects of dietary zinc supplementation on hen performance, ammonia volatilization, and nitrogen retention in manure. **Poult. Sci.** 40: 675-686.

Kincaid, R.L., B.P. Chew and J.D. Cronrath. 1997. Zinc oxide and amino acid as sources of dietary zinc for claves: effects on uptake and immunity. **J. Dairy. Sci.** 80: 1381-1388.

Mabe, I., C. Rapp, M.M. Bain and Y. Nys. 2003. Supplementation of a corn-soybean meal diet with manganese, copper and zinc from organic or inorganic sources improves eggshell quality in aged laying hens. **Poult. Sci.** 82: 1903-1913.

McDowell, L.R. 1992. **Minerals in Animal and Human Nutrition**. Academic Press, Inc., San Diego.

Nicholls, D.G., and S.L. Budd. 2000. Mitochondria and neuronal survival. **Physiol. Rev.** 80: 315-360.

Nys, Y., M.T. Hincke, J.L. Arias, J.M. Garcia-Ruiz and S.E.Solomon. 1999. Avian eggshell mineralization. **Poult. Avian Biol. Rev.** 10: 143-166.

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

NRC. 1994. **Nutrient Requirements of Poultry.** 9th ed. National Academy press, Washington, D.C.

_____. 1998. **Nutrient Requirements of Swine**. 10th ed. National Academy press, Washington, D.C.

Olin, K.M., M.S. Golub, M.E. Gershwin, A.G. Hendrickx, B. Lonnerdal and C.L. Keen. 1995. Extracellular superoxide dismutase activity is affected by dietary zinc intake in nonhuman primate and rodent models. **Am. J. Clin. Nutri.** 61: 1263-1267.

Pocker, Y. and N. Janjic. 1988. Differential modification of specificity in carbonic anhydrase catalysis. **J. Biol. Chem.** 263: 6169.

Pond, W.G., D.C. Church and K.R. Pond. 1995. **Basic Animal Nutrition and Feeding.** 4th ed. John Wiley and Sons. Inc., New York.

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

Sahin, K., M.O. Smith, M. Onderci, N. Sahin, M.F. Gursu, S. Gursu and O. Kucuk. 2005. Supplementation of zinc form organic or inorganic source improves performance and antioxidant status of heat-distressed quail. **Poult. Sci.** 84: 882-887.

SAS. 2003. **SAS/STAT User' Guide**. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.

Scott, M.L., M.C. Nesheim and R.J. Young. 1971. **Nutrition of the Chicken.** M.L. Scott & Associates Publishers, New York.

_____, _____ and _____. 1982. **Nutrition of the Chicken.** M.L. Scott and Associates Ithaca, New York.

Shankar, A.H. and A.S. Prasad. 1998. Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection. **Am. J. Clin. Nutri.** 68: 447-463.

Spears, J.W. 1996. Organic trace mineral in ruminant nutrition. **Anim. Feed. Sci. Tech.** 58: 151-163.

Stralin, P. and S.L. Marklund. 1994. Effects of oxidative stress on expression of extracellular superoxide dismutase, CuZn-superoxide dismutase and Mn-superoxide dismutase in dermal fibroblasts. **Biochem. J.** 298: 347-352.

Tan, J.Z., H.I. Chen and A.Q. Zeng. 1988. Energy and protein requirement of putain laying duck. **Chinese J. Anim. Sci**. 6: 3-8.

Talor, C.G. and T.M. Bray. 1991. Effect of hyperoxia on oxygen free radical defence enzymes in the lung of zinc-deficient. **J. Nutr.** 110: 805-810.

Tizard, I.R. 2004. **Veterinary Immunology.** 7 ed. Elsevier, Texas.

Tullett, S.G. 1987. Egg shell formation and quality, pp. 123-146. *in* R.G Well and C.G. Belyavin, eds. **Egg Quality-Current Problems and Recent Advances.** Carfax Publishing Company, London.

Ukeda, H., A.K. Sarker, D. Kawana and M. Sawamura. 1999. SOD Assay Kit-WST. **Anal. Sci.** 15: 353.

Underwood, E.J. 1981. **Mineral Nutrition of Livestock**. 2nd ed. Commonwealth Agriculture Bureaux. London.

Wedekind, K.J. and D.H. Baker. 1992. Methodology for assessing zinc bioavailability: Efficacy estimates for zinc methionine, zinc sulfate and zinc oxide. **J. Anim. Sci.** 70: 178-187.

Zalewski, P.D. 1996. Zinc and immunity: implications for growth, survival and function of lymphoid cells. **J. Nutr. Immunol.** 4: 39-80.

# ภาคผนวก

**การคำนวณระดับของสังกะสีที่ผสมใน premix zinc สำหรับการผสมอาหาร 100 กก.**

จาก zinc amono acid complex 1 กก มีสังกะสีอยู่ 120 กรัม

จาก $ZnSO_4$ 1 กก มีสังกะสี 360 กรัม

จาก $ZnSO_4$ มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 287.54 กรัม มีสังกะสีอยู่เท่ากับ 65.37 กรัม

ถ้า $ZnSO_4$ มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 1 กรัม มีสังกะสีอยู่เท่ากับ 0.23 กรัม

**กลุ่มทดลองที่ 1 (ไม่เสริมสังกะสี)**

อาหาร 1000 กก. ใช้ zinc amono acid complex 0 กก.

ดังนั้น ชั่ง zinc amono acid complex 0 กก. และชั่ง ข้าวโพดละเอียด 500 กรัม

**กลุ่มทดลองที่ 2 (เสริมสังกะสีอินทรีย์ในรูป zinc amono acid complex 40 มก./กก)**

อาหาร 1000 กก. ต้องใช้ zinc amono acid complex = (1×40)/120 กก.

= 0.34 กก.

อาหาร 100 กก. ต้องใช้ zinc amono acid complex = (0.34×100)/1000 กก.

= 0.034 กก

= 34 กรัม

ดังนั้น ชั่ง zinc amono acid complex 34 กก. และชั่ง ข้าวโพดละเอียด 466 กรัม

**กลุ่มทดลองที่ 3 (เสริมสังกะสีอินทรีย์ในรูป zinc amono acid complex 80 มก./กก)**

อาหาร 1000 กก. ต้องใช้ zinc amono acid complex = (1×80)/120 กก.

= 0.67 กก.

อาหาร 100 กก. ต้องใช้ zinc amono acid complex = (0.67×100)/1000 กก.

= 0.067 กก

= 67 กรัม

ดังนั้น ชั่ง zinc amono acid complex 67 กก. และชั่ง ข้าวโพดละเอียด 433 กรัม

**กลุ่มทดลองที่ 4 (เสริมสังกะสีอินทรีย์ในรูป zinc amono acid complex 120 มก./กก)**

อาหาร 1000 กก. ต้องใช้ zinc amono acid complex = (1×120)/120 กก.

= 1 กก.

อาหาร 100 กก. ต้องใช้ zinc amono acid complex = (1×100)/1000 กก.

= 0.1 กก

= 100 กรัม

ดังนั้น ชั่ง zinc amono acid complex 100 กก. และชั่ง ข้าวโพดละเอียด 400 กรัม

**กลุ่มทดลองที่ 5 (เสริมสังกะสีอนินทรีย์ในรูป $ZnSO_4$ 120 มก./กก)**

อาหาร 100 กก. ชั่งสังกะสีเท่ากับ 52.7 กรัม และชั่ง ข้าวโพดอ่อน 437.3 กรัม

**ตารางผนวกที่ 1** ข้อมูลอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ภายในโรงเรือนตลอดการทดลอง

| วัน/เดือน/ปี | อุณหภูมิเวลาเช้า (°C) | อุณหภูมิเวลาเย็น (°C) | ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย (%) |
|---|---|---|---|
| 10/11/2549 | 24.1 | 29.6 | 76 |
| 11/11/2549 | 25.9 | 29.2 | 78 |
| 12/11/2549 | 27.2 | 28.0 | 75 |
| 13/11/2549 | 23.6 | 27.9 | 77 |
| 14/11/2549 | 22.6 | 28.9 | 76 |
| 15/11/2549 | 23.9 | 27.2 | 77 |
| 16/11/2549 | 21.9 | 27.4 | 76 |
| 17/11/2549 | 28.9 | 29.5 | 78 |
| 18/11/2549 | 23.4 | 29.6 | 78 |
| 19/11/2549 | 24.3 | 30.0 | 78 |
| 20/11/2549 | 28.5 | 30.0 | 80 |
| 21/11/2549 | 24.8 | 31.3 | 80 |
| 22/11/2549 | 24.9 | 30.5 | 79 |
| 23/11/2549 | 24.9 | 30.1 | 79 |
| 24/11/2549 | 24.8 | 29.1 | 79 |
| 25/11/2549 | 25.2 | 27.8 | 80 |
| 26/11/2549 | 25.0 | 29.6 | 80 |
| 27/11/2549 | 24.5 | 29.0 | 79 |
| 28/11/2549 | 24.0 | 29.2 | 79 |
| 29/11/2549 | 24.5 | 29.0 | 80 |
| 30/11/2549 | 24.5 | 29.3 | 80 |
| 1/12/2549 | 24.6 | 29.7 | 81 |
| 2/12/2549 | 25.9 | 29.5 | 80 |

**ตารางผนวกที่ 1** (ต่อ)

| วัน/เดือน/ปี | อุณหภูมิเวลาเช้า (°C) | อุณหภูมิเวลาเย็น (°C) | ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย (%) |
|---|---|---|---|
| 3/12/2549 | 24.2 | 28.8 | 80 |
| 4/12/2549 | 26.3 | 27.8 | 75 |
| 5/12/2549 | 25.0 | 27.8 | 75 |
| 6/12/2549 | 25.6 | 30.5 | 78 |
| 7/12/2549 | 23.8 | 30.0 | 78 |
| 8/12/2549 | 24.8 | 32.0 | 79 |
| 9/12/2549 | 26.5 | 31.0 | 79 |
| 10/12/2549 | 24.3 | 28.4 | 78 |
| 11/12/2549 | 24.3 | 27.8 | 79 |
| 12/12/2549 | 24.6 | 28.6 | 78 |
| 13/12/2549 | 21.9 | 27.2 | 88 |
| 14/12/2549 | 21.1 | 27.3 | 77 |
| 15/12/2549 | 23.2 | 28.2 | 77 |
| 16/12/2549 | 24.0 | 29.5 | 76 |
| 17/12/2549 | 24.5 | 28.0 | 77 |
| 18/12/2549 | 21.9 | 26.6 | 67 |
| 19/12/2549 | 20.9 | 26.9 | 68 |
| 20/12/2549 | 21.3 | 26.6 | 66 |
| 21/12/2549 | 19.2 | 23.5 | 65 |
| 22/12/2549 | 18.3 | 26.4 | 63 |
| 23/12/2549 | 18.7 | 26.2 | 63 |
| 24/12/2549 | 16.2 | 26.4 | 64 |
| 25/12/2549 | 19.2 | 24.9 | 64 |

**ตารางผนวกที่ 1** (ต่อ)

| วัน/เดือน/ปี | อุณหภูมิเวลาเช้า (°C) | อุณหภูมิเวลาเย็น (°C) | ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย (%) |
|---|---|---|---|
| 26/12/2549 | 18.6 | 26.8 | 67 |
| 27/12/2549 | 20.1 | 27.0 | 68 |
| 28/12/2549 | 18.9 | 25.6 | 68 |
| 29/12/2549 | 22.1 | 27.1 | 78 |
| 30/12/2549 | 21.9 | 28.0 | 88 |
| 31/12/2549 | 18.2 | 27.5 | 77 |
| 1/1/2550 | 19.5 | 27.9 | 70 |
| 2/1/2550 | 19.5 | 27.5 | 71 |
| 3/1/2550 | 18.4 | 26.8 | 72 |
| 4/1/2550 | 18.4 | 28.4 | 71 |
| 5/1/2550 | 20.1 | 26.8 | 70 |
| 6/1/2550 | 23.0 | 26.6 | 70 |
| 7/1/2550 | 23.4 | 31.2 | 70 |
| 8/1/2550 | 23.2 | 30.5 | 66 |
| 9/1/2550 | 21.7 | 27.6 | 66 |
| 10/1/2550 | 21.8 | 27.6 | 66 |
| 11/1/2550 | 19.6 | 27.3 | 77 |
| 12/1/2550 | 20.1 | 28.0 | 79 |
| 13/1/2550 | 19.8 | 28.0 | 76 |
| 14/1/2550 | 20.6 | 28.5 | 78 |
| 15/1/2550 | 21.7 | 28.0 | 79 |
| 16/1/2550 | 20.8 | 27.8 | 79 |
| 17/1/2550 | 21.7 | 26.8 | 79 |

**ตารางผนวกที่ 1** (ต่อ)

| วัน/เดือน/ปี | อุณหภูมิเวลาเช้า (°C) | อุณหภูมิเวลาเย็น (°C) | ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย (%) |
|---|---|---|---|
| 18/1/2550 | 21.9 | 28.7 | 76 |
| 19/1/2550 | 22.5 | 28.5 | 77 |
| 20/1/2550 | 25.0 | 28.6 | 78 |
| 21/1/2550 | 23.4 | 29.3 | 77 |
| 22/1/2550 | 23.3 | 26.5 | 74 |
| 23/1/2550 | 25.2 | 26.5 | 79 |
| 24/1/2550 | 23.6 | 28.4 | 79 |
| 25/1/2550 | 22.4 | 27.2 | 76 |
| 26/1/2550 | 22.5 | 27.3 | 76 |
| 27/1/2550 | 23.2 | 26.8 | 76 |
| 28/1/2550 | 21.1 | 26.8 | 70 |
| 29/1/2550 | 18.7 | 26.5 | 77 |
| 30/1/2550 | 17.6 | 26.0 | 74 |
| 31/1/2550 | 17.6 | 26.5 | 78 |
| 1/2/2550 | 17.9 | 26.9 | 80 |
| 2/2/2550 | 18.5 | 26.0 | 78 |
| 3/2/2550 | 18.7 | 26.5 | 79 |
| 4/2/2550 | 15.7 | 25.6 | 79 |
| 5/2/2550 | 18.5 | 26.5 | 77 |
| 6/2/2550 | 17.4 | 27.8 | 79 |
| 7/2/2550 | 21.6 | 28.5 | 76 |
| 8/2/2550 | 21.7 | 27.9 | 78 |
| 9/2/2550 | 21.5 | 26.5 | 79 |

**ตารางผนวกที่ 1** (ต่อ)

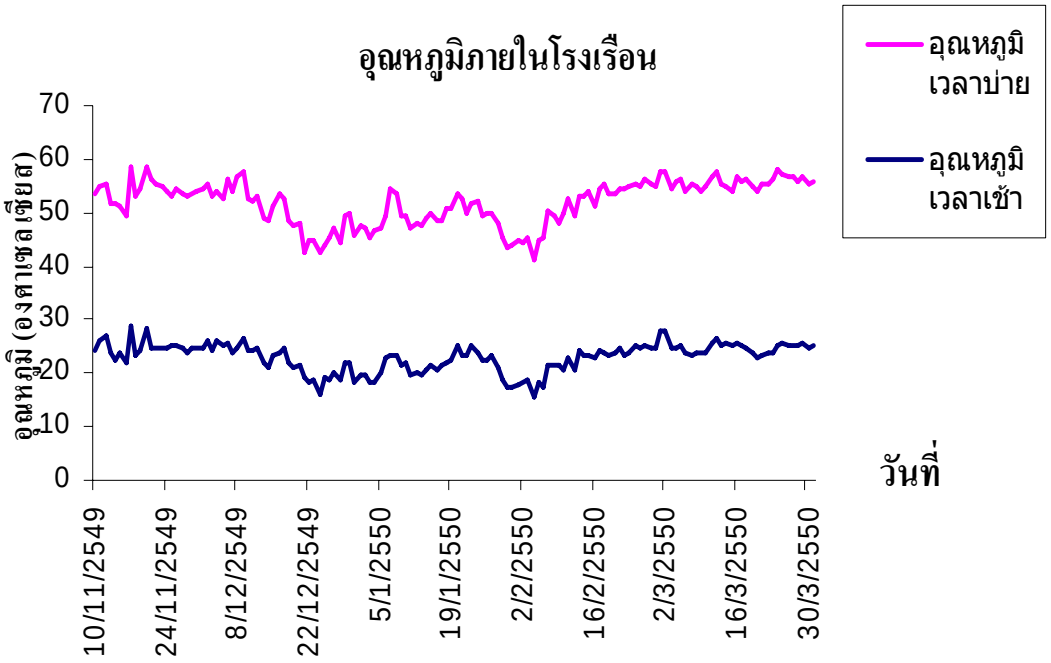
| วัน/เดือน/ปี | อุณหภูมิเวลาเช้า (°C) | อุณหภูมิเวลาเย็น (°C) | ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย (%) |
|---|---|---|---|
| 10/2/2550 | 20.4 | 29.5 | 79 |
| 11/2/2550 | 22.8 | 29.7 | 79 |
| 12/2/2550 | 20.5 | 29.0 | 76 |
| 13/2/2550 | 24.4 | 28.9 | 78 |
| 14/2/2550 | 23.4 | 29.6 | 78 |
| 15/2/2550 | 23.4 | 30.4 | 76 |
| 16/2/2550 | 22.7 | 28.6 | 77 |
| 17/2/2550 | 24.4 | 29.9 | 78 |
| 18/2/2550 | 24.0 | 31.2 | 76 |
| 19/2/2550 | 23.5 | 30.2 | 75 |
| 20/2/2550 | 23.9 | 29.5 | 78 |
| 21/2/2550 | 24.6 | 29.9 | 75 |
| 22/2/2550 | 23.5 | 30.9 | 76 |
| 23/2/2550 | 24.0 | 30.9 | 77 |
| 24/2/2550 | 25.2 | 30.2 | 74 |
| 25/2/2550 | 24.5 | 30.6 | 74 |
| 26/2/2550 | 25.0 | 31.4 | 74 |
| 27/2/2550 | 24.5 | 30.9 | 73 |
| 28/2/2550 | 24.5 | 30.2 | 76 |
| 1/3/2550 | 27.7 | 30.0 | 76 |
| 2/3/2550 | 27.8 | 29.7 | 77 |
| 3/3/2550 | 24.9 | 29.5 | 78 |
| 4/3/2550 | 24.5 | 31.2 | 76 |

**ตารางผนวกที่ 1** (ต่อ)

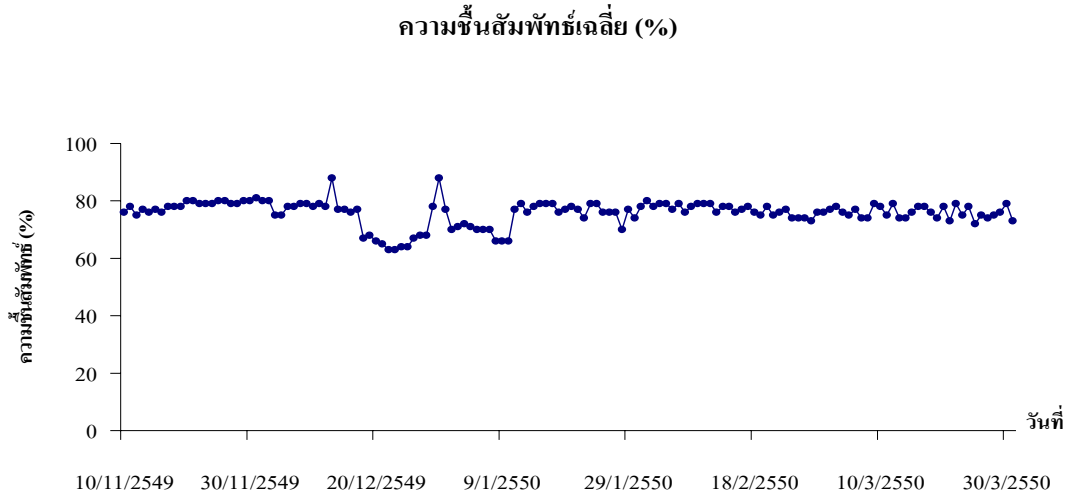
| วัน/เดือน/ปี | อุณหภูมิเวลาเช้า (°C) | อุณหภูมิเวลาเย็น (°C) | ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย (%) |
|---|---|---|---|
| 5/3/2550 | 25.2 | 30.9 | 75 |
| 6/3/2550 | 24.0 | 30.0 | 77 |
| 7/3/2550 | 23.5 | 32.0 | 74 |
| 8/3/2550 | 24.0 | 30.8 | 74 |
| 9/3/2550 | 24.0 | 30.0 | 79 |
| 10/3/2550 | 24.0 | 30.8 | 78 |
| 11/3/2550 | 25.7 | 31.1 | 75 |
| 12/3/2550 | 26.7 | 31.1 | 79 |
| 13/3/2550 | 25.2 | 30.0 | 74 |
| 14/3/2550 | 25.4 | 29.7 | 74 |
| 15/3/2550 | 25.0 | 29.0 | 76 |
| 16/3/2550 | 25.5 | 31.4 | 78 |
| 17/3/2550 | 25.0 | 30.8 | 78 |
| 18/3/2550 | 24.6 | 31.7 | 76 |
| 19/3/2550 | 24.0 | 31.0 | 74 |
| 20/3/2550 | 23.0 | 31.2 | 78 |
| 21/3/2550 | 23.5 | 32.0 | 73 |
| 22/3/2550 | 24.0 | 31.5 | 79 |
| 23/3/2550 | 24.0 | 32.5 | 75 |
| 24/3/2550 | 25.0 | 33.0 | 78 |
| 25/3/2550 | 25.4 | 31.9 | 72 |
| 26/3/2550 | 25.0 | 31.9 | 75 |
| 27/3/2550 | 25.0 | 31.8 | 74 |

**ตารางผนวกที่ 1** (ต่อ)

| วัน/เดือน/ปี | อุณหภูมิเวลาเช้า (°C) | อุณหภูมิเวลาเย็น (°C) | ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย (%) |
|---|---|---|---|
| 28/3/2550 | 25.2 | 30.5 | 75 |
| 29/3/2550 | 25.5 | 31.2 | 76 |
| 30/3/2550 | 24.9 | 30.3 | 79 |
| 31/3/2550 | 25.0 | 30.8 | 73 |



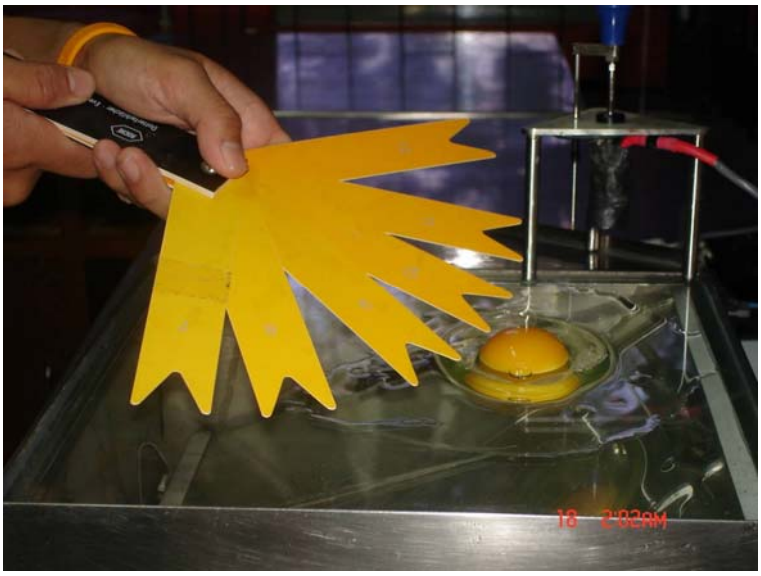

**ภาพผนวกที่ 1** อุณหภูมิเวลาเช้าและเวลาบ่ายภายในโรงเรือนระหว่างการทดลอง




**ภาพผนวกที่ 2** ความชื้นสัมพัทธ์ภายในโรงเรือนระหว่างการทดลอง

**การวิเคราะห์คุณภาพไข่**

**ภาพผนวกที่ 3** ระดับความเข้มข้นของน้ำเกลือที่ใช้ในการวิเคราะห์ค่าความถ่วงจำเพาะของไข่ โดยมีค่าตั้งแต่ 1.060, 1.064, 1.068, 1.072, 1.076, 1.080, 1.084, 1.088, 1.092, 1.096, 1.100 และ 1.104



**ภาพผนวกที่ 4** การใช้พัดสี (yolk color fan) สำหรับวัดความเข้มสีไข่แดง โดยมีสีเหลืองอ่อนถึงสีส้มแดง ตั้งแต่ 1-15

**ภาพผนวกที่ 5** วิธีการวัดความสูงของไข่ขาว

**ภาพผนวกที่ 6** เครื่องไมโครมิเตอร์สำหรับวัดความหนาเปลือกไข่

**การตรวจหาแร่ธาตุสังกะสีในไข่แดง**

วิเคราะห์หาปริมาณสังกะสีในไข่แดงโดยเครื่อง optical emission spectrometer (OES) รุ่น optima 2000 DV ตามวิธีของ T-CM-019 based on AOAC (2000) 999.10 การตรวจหาปริมาณสังกะสีในไข่แดง โดยใช้หลักการของ inductively couple plasma (ICP)

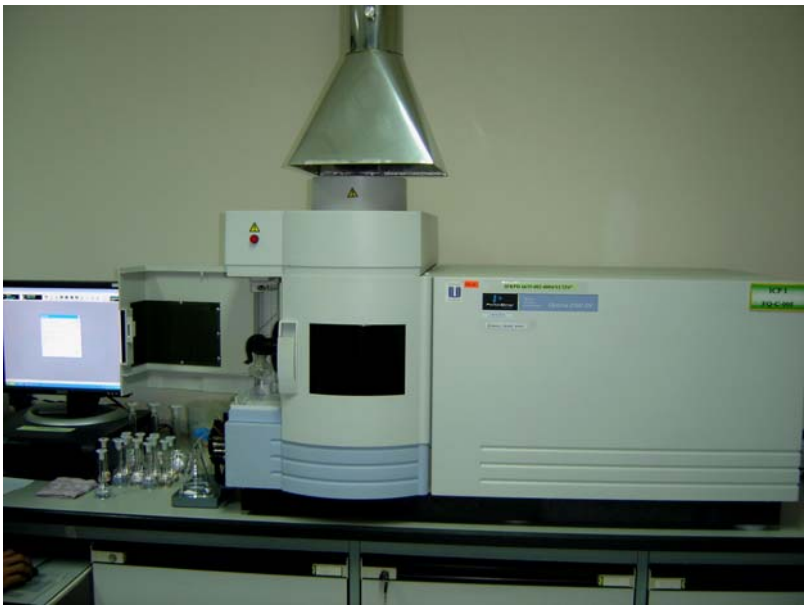
**Inductively couple plasma (ICP)**

ICP-AES เป็นเครื่องมือที่ใช้เทคนิคชั้นสูง ใช้วิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของโลหะแร่ธาตุในสารตัวอย่าง เป็นชื่อย่อของ inductively coupled plasma atomic emission spectrometry หลักการทำงานของเครื่องมือและวิธีการตรวจวิเคราะห์โดยย่อๆ เป็นดังนี้ นำตัวอย่างซึ่งในที่นี้อาหารมาผ่านกระบวนการ dry ashing หรือ wet digestion เพื่อทำลายสารอินทรีย์ในอาหารให้หมดไป เหลือแต่พวกโลหะหรือแร่ธาตุ และเมื่อละลายด้วยกรดเจือจาง ผ่านการกรอง โลหะหรือแร่ธาตุเหล่านั้นจะถูกฉีดเข้าเครื่องมือผ่านเข้าไปใน plasma ซึ่งทำหน้าที่เป็นแหล่งของพลังงาน ซึ่งคล้ายคลึงกับ flame ของเครื่อง atomic absorption spectrometer แต่เนื่องจาก plasma ให้อุณหภูมิสูงกว่า flame มาก จึงเป็นข้อได้เปรียบที่จะกล่าวต่อไป เมื่อสารละลายของตัวอย่างผ่านเข้าไปใน Plasma จะผ่านกระบวนการ desolvation ได้เป็น solid ผ่านกระบวนการ vaporization ได้เป็น gasและผ่านกระบวนการ atomization ได้เป็น atom กระบวนการเหล่านี้เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องและรวดเร็วขณะที่อยู่ใน plasma เมื่อเป็น atom แล้วได้รับพลังงานต่อไปโอกาสที่จะเกิดขึ้นมี 2 ทาง คือ (1) atom จาก ground state

จะเป็น exited state (2) หรือเมื่อรับพลังงานจำ นวนมากจาก atom จะเปลี่ยนเป็น ion คือมีประจุบวก จาก ion ประจุบวก ground state เมื่อรับพลังงานเพิ่ม ก็เป็น ion ประจุบวก exited state จาก atom exited state หรือ ion ประจุบวก exited state เมื่อสูญเสียพลังงานจะกลับมาเป็น atom และ ion ประจุบวก ground state การสูญเสียพลังงานดังกล่าวจะเป็นการเปล่งรังสี (emission) ที่ช่วงความยาวคลื่นเฉพาะและมีหลายค่าของความยาวคลื่น และปริมาณหรือความเข้มของการเปล่งรังสีจะสัมพันธ์กับปริมาณของ atom หรือ ion ที่มีอยู่ ดังนั้นเราจึงอาศัยการเปล่งรังสีดังกล่าวในการหาชนิดของแร่ธาตุและปริมาณของแร่ธาตุได้ ICP-AES อาศัยหลักการดังกล่าวในการตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของแร่ธาตุในสารละลายของตัวอย่างได้เนื่องจากแร่ธาตุแต่ละชนิดจะเปล่งรังสีที่ความยาวคลื่นเฉพาะและมีหลายค่าของความยาวคลื่น จึงสามารถเลือกความยาวคลื่นที่ไม่ตรงกันหรือไม่รบกวนกัน ในการวิเคราะห์แร่ธาตุหลายๆ ชนิดในคราวเดียวกันได้ ซึ่งเราเรียกว่า multielements หรือ simultaneous

**อุปกรณ์**

1. เครื่อง optical emission spectrometer (OES)
2. เตาย่อย
3. หลอดย่อยสาร
4. volumetric flask ประมาณ 25 มล
5. เครื่องคอมพิวเตอร์
6. ตัวอย่างไข่แดง



**ภาพผนวกที่ 7**: เครื่อง optical emission spectrometer (OES) รุ่น Optima 2000 DV

**สารเคมี**

1. กรดไนตริก
2. เปอร์คลอไรด์

**วิธีการวิเคราะห์ปริมาณสังกะสีในไข่แดง**

ทำการสุ่มไข่ไก่ในแต่ละซ้ำ ซ้ำละ 6 ฟอง เมื่อเลี้ยงไก่ครบที่ 7, 28, 56, 84 วัน เพื่อวิเคราะห์หาความเข้มข้นของแร่ธาตุสังกะสีในไข่แดงดังนี้ นำตัวอย่างไข่แดงจำนวน 3 ฟองมารวมกันเป็น 1 ตัวอย่าง จากนั้นทำการชั่งน้ำหนักตัวอย่างไข่แดงประมาณ 1 กรัม ลงในหลอดสำหรับย่อย ทำการย่อยโดยใช้กรดไนตริก 5 มล. และใส่เปอร์คลอไรด์ 5 มล. เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 10 นาที จากนั้นนำตัวอย่างไข่แดงที่ได้ย่อยในเตาสำหรับย่อย โดยใช้เวลาในการย่อยทั้งหมด 3 ชั่วโมง เพื่อเป็นการทำให้ส่วนของสารอินทรีย์สลายจนหมด เหลือส่วนที่เป็นสารอนินทรีย์ซึ่งมีลักษณะเป็นสารละลายสีขาวใส จากนั้นนำสารละลายสีขาวใส ถ่ายลงในvolumetric flask ประมาณ 25 มล. ใช้น้ำกลั่นปรับปริมาตร ทิ้งไว้เพื่อให้กรดทำปฏิกิริยากับน้ำจากนั้นสารละลายใสที่ได้วิเคราะห์หาสังกะสีในไข่แดงโดยใช้หลักการของ inductively couple plasma (ICP)

**การวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส**

ศึกษาผลของการใช้สังกะสีในระดับต่างๆ ในรูปของแร่ธาตุอนินทรีย์และแร่ธาตุอินทรีย์ต่อปริมาณสังกะสีในเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสโดยใช้ SOD Assay Kit-WST ตามวิธีของ Ukeda *et al*. (1999)

**อุปกรณ์และสารเคมี**

1. WST solution 5 ml
2. Enzyme solution 100 µl
3. Buffer solution100 µl
4. Dilution buffer 50 ml
5. Manual 1 booklet
6. Plate reader (450 nm filter)
7. 96-well microplate
8. 10 µl and 100-200 µl pipettes and a multi-channel pipette
9. Incubator

**วิธีการทดลอง**

1. วิธีการเตรียม working solution

1.1 เตรียม WST working solution : ใช้ WST solution 1 ml ผสมกับ buffer solution 19 ml

1.2 เตรียม enzyme working solution : นำ enzyme solution tube มา centrifuge เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นทำการผสม enzyme solution 15 µl กับ dilution buffer 2.5 ml โดยใช้ pipeting

2. วิธีการวิเคราะห์หา SOD activity

2.1. การเตรียม blank

2.1.1 blank 1: ใส่ $H_2O$ ลงใน well ของ blank 1 จำนวน 20 µl + ใส่ WST working solution 200 µl + ใส่ enzyme working solution จำนวน 20 µl

2.1.2 blank 2: ใส่ sample solution 20 µl ลงใน well ของ blank ที่ 2 +ใส่ WST working solution 200 µl + ใส่ dilution buffer จำนวน 20 µl

2.1.3 blank 3: ใส่ $H_2O$ ลงใน well ของ blank 3 จำนวน 20 µl + ใส่ WST working solution 200 µl + ใส่ dilution buffer จำนวน 20 µl

2.2. การเตรียม sample solution โดยใช้ตัวอย่างซีรั่มใส่ลงในแต่ละ well จำนวน 20 µl และใส่ WST working solution 200 µl ลงในแต่ละ well แล้วผสมให้เข้ากัน จากนั้นใส่ enzyme working solution จำนวน 20 µl แล้วผสมให้เข้ากัน นำ plate ที่ได้ไป incubate ที่ T 37°C เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำ plate ไปอ่านค่า absorbance ที่ความยาวคลื่น 450 nm โดยใช้เครื่อง microplate reader

2.3 การคำนวณค่า superoxide dismutase (SOD) activity โดยสูตร

**SOD activity** = {[(A blank 1- A blank 3) – A sample – A blank 2)]/(A blank 1- A blank 3)} ×100

เมื่อ A = ค่าการดูดกลืนแสง

## การวิเคราะห์ผลต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะเจาะจง

การตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันต่อเม็ดเลือดแดงแกะ (total antibody) โดยวิธี haemagglutination inhibition test (HI test) ตรวจหา immunoglobulin M (IgM) โดยใช้ chicken IgM ELISA quantitation kit และ immunoglobulin G (IgG) โดยใช้ chicken IgG ELISA quantitation kit

## การตรวจหาไตเตอร์รวม

การตรวจหาระดับไตเตอร์รวมหลังการกระตุ้นด้วยเซลล์เม็ดเลือดแดงแกะด้วยวิธี haemagglutination inhibition test (HI test)

### อุปกรณ์และสารเคมี

1 phosphate buffer saline (PBS) pH 7.4

2 alsever's solution

3 0.5% sheep red blood cell (SRBC)

4 96 well microtitre plate V-shape bottom

5 micro dilution tube

6. hematocytometer และ hematocrit tube

7. vortex

8. auto-pipette (single channel และ multi-channels)

9. ตู้อบควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

### อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างเลือดของไก่ไข่

1. กระบอกฉีดยาขนาด 3 และ 5 มิลลิลิตร

2. เข็มฉีดยาขนาด 1 นิ้ว เบอร์ 23

3. แอลกอฮอล์ 70%

4. สำลี

5. ถุงมือ

**การเตรียมสารละลาย Alsever's solution (300 ml)**

**อุปกรณ์และสารเคมี**

1. citric acid ,$C(OH)(COOH)(CH_2.COOH)2.H_2O$ =0.15 g
2. sodium citrate ($Na_3C_6H_5O_7.2H_2O$) =2.4g
3. D-glucose ($C_6H_{12}O_6$) = 6.15 g
4. NaCl = 1.26g
5. เครื่องชั่งสารเคมี
6. ขวดบอกปริมาตร
7. เครื่อง autoclave

**วิธีการเตรียม Alsever's solution**

1. sterile ขวดที่ใช้เตรียมสารละลายด้วยเครื่อง autoclave
2. ชั่งสารเคมีและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 300 mL
3. ทำให้ sterilize โดยใช้ autoclave อุณหภูมิ 116 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที
4. รอให้เย็นและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

**การเตรียมสารละลาย Phosphate buffer saline (PBS) (300 mL)**

**อุปกรณ์และสารเคมี**

1. NaCl =2.4 g
2. $Na_2HPO_4$= 0.414 g

**วิธีการเตรียม Phosphate buffer saline (PBS) (300 mL)**

1. ชั่งสารเคมี ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 300 mL
2. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 300 mL
3. ปรับ pH ให้ได้ 7.4 โดยใช้ HCL และ NaOH เป็นตัวปรับ โดยใช้เครื่อง pH miter

4. นำไป sterilize ด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15-20 นาที
5. รอให้เย็นและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

**การเตรียมเซลล์เม็ดเลือดแดงแกะ**

**อุปกรณ์และสารเคมี**

1. capillary
2. tube plastic ขนาด 50 mL
3. เครื่องปั่นเหวี่ยง
4. อุปกรณ์ตรวจวัดเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดแดงแกะ

**วิธีการเตรียมเซลล์เม็ดเลือดแดงแกะ**

นำเลือดแกะที่ผสมอยู่กับ alsever's solution เขย่าๆ แล้วแบ่งใส่ tube plastic ขนาด 50 mL ประมาณ 40 mL นำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 2,800 rmp ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที เมื่อทำการปั่นเลือดเสร็จแล้วต้องดูดสารละลาย alsever ออกจาก tube plastic ให้หมดเหลือแค่เม็ดเลือดแดงแกะแล้วเติมสารละลาย PBS ลงใน tube plastic เพื่อล้างสารละลาย alsever ออก จากนั้นนำเลือดแกะมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 2,800 rmp ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที หลังจากการปั่นเลือดแกะเสร็จแล้วต้องดูดสารละลาย PBS ออกให้หมดเหลือแค่เม็ดเลือดแดงแกะ แล้วเติมสารละลาย PBS ลงใน tube plastic เพื่อล้าง alsever อีกครั้ง จากนั้นนำเลือดแกะที่ได้มาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 2,800 rmp ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที หลังการปั่นเสร็จแล้วทำการดูดสารละลาย PBS ออกให้หมดเหลือแค่เม็ดเลือดแดงแกะ แล้วเติมสารละลาย PBS ลงใน tube plastic ปริมาตรที่แน่นอน (40 m l) จากนั้นนำ capillary มาอุดดินน้ำมันประมาณ 4 หลอด ทำการดูดเม็ดเลือดแดงแกะที่ได้จากการเตรียมไว้แล้ว นำ capillary ที่ดูดเลือดแกะเสร็จแล้วมาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องอีมาโตคริตที่ความเร็วรอบ 10,000 rmp เวลา 5-7 นาที นำ capillary ที่ได้มาอ่านค่าเปอร์เซ็นต์ SRBC ด้วยเครื่องอ่านเทียบวัด จากนั้นคำนวณปริมาตรเม็ดเลือดแดงที่ต้องการโดยใช้สูตร ดังนี้

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

**การตรวจหา Immunoglobulin M (IgM) และ Immunoglobulin G (IgG)**

## อุปกรณ์และสารเคมี

1. c bottom Immunoplate 96 well
2. multichalnel pipet
3. microplate reader
4. incubater
5. chicken IgM quantitation ELISA
6. กระติกน้ำแข็ง
7. น้ำแข็ง
8. ปากกา
9. เครื่องคิดเลข

## การเตรียม solution และ reagents

1. เตรียม coating buffer
   ใช้ 0.05 M carbonate-bicarbonate (pH 9.6)

2. เตรียม wash solution
   ใช้ 50 mM tris เติม 0.14 M NaCl และเติม 0.05%Tween 20 จากนั้นปรับให้ได้ pH 8.0

3. เตรียม blocking (postcoat) solution
   ใช้ 50 mM เติม Tris 0.14 M NaCl และเติม 1% BSA (bovine serum albumin) จากนั้นปรับให้ได้ pH 8.0

4. เตรียม smple/conjugate diluent

ใช้ 50 mM tris เติม.14 M NaCl เติม % BSA (bovine serum albumin) เติม 0.05% Tween 20 จากนั้นปรับให้ได้ pH 8.0

5. เตรียม enzyme substrate

ใช้ TMB

6. เตรียม stopping solution

ใช้ 2 M $H_2SO_4$

**วิธีการวิเคราะห์**

1. การเคลือบแอนติบอดีลงใน 96 well plate

กำหนด well ที่ต้องการใส่ standard sample และ blank หรือ control โดยมีการทำซ้ำด้วย ทำการเจือจาง 1 mcl capture antibody ให้ได้ 100 mcl และทำการ coating buffer ลงในแต่ละ well (สำหรับ 32 well ให้เจือจาง จาก 34 mcl ถึง 3.4 ml จากนั้นนำ coated plate ที่ได้ไป incubate 60 นาที หลังจาก incubate เสร็จแล้วให้ล้าง well เพื่อขจัด capture antibody solution ออกจาก well ให้หมด ทำการล้างแต่ละ well ด้วย wash solution โดยเติม wash solution ลงในแต่ละ well ให้เต็ม แล้วเทออก ทำซ้ำแบบนี้ 3 ครั้ง

2. การ blocking (postcoat)

ทำการเติม blocking (postcoat) solution 200 mcl ลงในแต่ละ well นำ well ที่ได้ไป incubate 30 นาที หลังจาก incubate เสร็จแล้วให้ล้าง well เพื่อขจัด blocking (postcoat) solution ออกจาก well ให้หมด เป็นเวลา 3 นาที ทำซ้ำแบบนี้ 3 ครั้ง

3. การเตรียม standard และ sample

เจือจาง standards ก่อนลงใน sample diluent according ลงใน tube ดังตารางผนวกที่ 2 ทำการเจือจาง sample เพื่อวิเคราะห์หาว่าค่าอยู่ในช่วงไหนของ standard จากนั้นทำการย้าย stardard ที่เจือจางแล้วจาก tube ไปยัง well โดยย้าย step จากแต่ละ step ละ 100 mcl แล้วนำ well ที่ได้ไป incubate 60 นาที หลังจาก incubate เสร็จแล้วให้ล้าง well เพื่อขจัด standard และ sample ออกจาก well ให้หมด เป็นเวลา 5 นาที ทำซ้ำแบบนี้ 3 ครั้ง

**ตารางผนวกที่ 2** การเจือจาง standard สำหรับวิเคราะห์หาอิมมูโนโกลบูลิน M และอิมมูโนโกลบูลิน G

| step | ng/ml | calibrator | Sample diluent (ml) |
|---|---|---|---|
| 1 | 250 | 5 µl | 8 |
| 2 | 125 | 1 ml | 1 |
| 3 | 62.5 | 1 ml | 1 |
| 4 | 31.25 | 1 ml | 1 |
| 5 | 15.625 | 1 ml | 1 |
| 6 | 7.8 | 1 ml | 1 |
| 7 | 3.9 | 1 ml | 1 |

4. การเตรียม HRP detection antibody

เจือจาง HRP conjugate ลงใน conjugate diluent โดยเริ่มเจือจางที่ 1:75,000 กับช่วงของ 1:5000 ถึง 1:75,000 ทำการย้าย HRP conjugate ที่เจืองจางแล้วลงในแต่ละ well 100 mcl นำไป incubate 60 นาที หลังจาก incubate เสร็จแล้วให้ล้าง well เพื่อขจัด HRP conjugate ออกจาก well ให้หมด เป็นเวลา 5 นาที ทำซ้ำแบบนี้ 3 ครั้ง

5. การเตรียม enzyme substrate reaction

เตรียม substrate solution ถ้าใช้ TMB เป็น substrate การอ่านค่าการดูดกลืนแสงให้ใช้ความยาวคลื่นแสงที่ 450 nm เมื่อเตรียม enzyme substrate reaction เสร็จแล้ว ทำการย้าย substrate solution ลงในแต่ละ well ในปริมาตร 100 mcl จากนั้นนำ well ไป incubate 5-30 นาที หลังการ incubate เสร็จแล้ว ทำการหยุดการเกิดปฏิกิริยา (stop TMB reaction) โดยใช้ 2 M $H_2SO_4$ ลงในแต่ละ well 100 mcl

6. การคำนวน

นำค่าการดูดกลืนแสงของแต่ละตัวอย่างมาหาค่าเฉลี่ย แล้วทำการคำนวณค่าอิมมูโนโกลบูลิน โดยใช้ program sigma plot

# ประวัติการศึกษา

| | |
|---|---|
| ชื่อ–นามสกุล | นางสาวอัจฉรา นิยมเดชา |
| วัน เดือน ปี ที่เกิด | 22 เมษายน 2526 |
| สถานที่เกิด | จังหวัดพัทลุง |
| ประวัติการศึกษา | วท.บ. (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ พ.ศ. 2548 |