

อุปกรณ์และวิธีการ

1. สัตว์ทดลอง

ใช้สุกรลูกผสมสามสายพันธุ์ (ลาร์จไวท์ x แลนด์เรจ x คูรีค) หย่านมที่อายุ 21 วัน น้ำหนักตัวประมาณ 6.0 - 7.0 กิโลกรัม จำนวน 144 ตัว แบ่งสุกรออกเป็น 6 กลุ่ม ๆ ละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 8 ตัว ในแต่ละกลุ่มได้รับทริทเมนต์โดยการสุ่ม สุกรถูกเลี้ยงในคอกขังรวม 1 คอก ต่อสุกร 8 ตัว แบ่งเป็นเพศผู้ตอน 4 ตัว และเพศเมีย 4 ตัว

2. อาหารและการให้อาหาร

อาหารทดลองผสมสารสกัดหยาบ (crude extract) จากพริกในระดับที่ให้สารแคปไซซินต่างกัน โดยแบ่งอาหารทดลองออกเป็น 6 สูตรดังนี้

- สูตรที่ 1 สูตรอาหารควบคุม (ไม่เสริมสารปฏิชีวนะในระดับเร่งการเจริญเติบโตและสารสกัดหยาบจากพริก)
- สูตรที่ 2 สูตรอาหารควบคุมเสริมด้วยยาปฏิชีวนะในระดับเร่งการเจริญเติบโต (Chlortetracycline 110 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร + Halquinol 120 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร)
- สูตรที่ 3 สูตรอาหารควบคุมเสริมด้วยสารสกัดหยาบจากพริกที่ให้แคปไซซินในระดับ 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร
- สูตรที่ 4 สูตรอาหารควบคุมเสริมด้วยสารสกัดหยาบจากพริกที่ให้แคปไซซินในระดับ 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร
- สูตรที่ 5 สูตรอาหารควบคุมเสริมด้วยสารสกัดหยาบจากพริกที่ให้แคปไซซิน ในระดับ 15 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร
- สูตรที่ 6 สูตรอาหารควบคุมเสริมด้วยสารสกัดหยาบจากพริกที่ให้แคปไซซินในระดับ 20 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร

อาหารควบคุมเป็นอาหารสำหรับลูกสุกรหย่านมคำนวณให้มีปริมาณสารอาหารที่เพียงพอ กับความต้องการที่แนะนำโดย NRC (1998) ส่วนประกอบของอาหารทดลองตลอดจนปริมาณ โภชนะจากการคำนวณดังแสดงในตารางที่ 4 ซึ่งสุกรทดลองทุกตัวได้รับการทำวัคซีนป้องกันโรค อหิวาต์สุกรที่อายุ 5 สัปดาห์ และได้รับวัคซีนป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อยที่อายุ 7 สัปดาห์

ตารางที่ 4 ส่วนประกอบของสูตรอาหารควบคุม

วัตถุดิบอาหารสัตว์	(กิโลกรัม)
ข้าวโพด	24.60
ปลายข้าว	34.58
น้ำมันปาล์ม	3.83
กากถั่วเหลือง (44 % โปรตีน)	24.00
โปรตีนถั่วเหลืองเข้มข้น	2.08
ปลาป่น (61 % โปรตีน)	5.04
หางนมผง (skim milk)	3.65
หินฟูน	0.79
โมโนไดแคลเซียมฟอสเฟต (P_{21})	0.73
ดีแอล-เมทไธโอนีน	0.05
แอล-ไลซีน	0.16
แอล-ทรีโอนีน	0.01
เกลือ	0.23
*วิตามินและแร่ธาตุพรีเม็กซ์	0.25
<u>รวม</u>	100.00

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ส่วนประกอบของโภชนะโดยการคำนวณ (%)	
พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ (ME)	3,300
(กิโลแคลอรี/กก. อาหาร)	
วัตถุแห้ง	88.77
โปรตีน	21.37
ไขมัน	5.24
เยื่อใย	2.01
เถ้า	5.27
แคลเซียม	0.90
ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้	0.70
เกลือ	0.41
ไลซีน	1.37
เมทไธโอนีน + ซีสตีน	0.77
ทรีโอนีน	0.85
ทริปโตเฟน	0.25

หมายเหตุ: *วิตามินและแร่ธาตุพรีมิกซ์ 1 กิโลกรัม ประกอบด้วย วิตามินเอ 5,000,000 IU; วิตามินดี₃ 1,000,000 IU; วิตามินอี 7,500 มิลลิกรัม; วิตามินเค₃ 1,250 มิลลิกรัม; วิตามินบี₁ 500 มิลลิกรัม; วิตามินบี₂ 1,500 มิลลิกรัม; วิตามินบี₃ 6,625 มิลลิกรัม; วิตามินบี₆ 750 มิลลิกรัม; วิตามินบี₁₂ 8 มิลลิกรัม; วิตามินซี 10,000 มิลลิกรัม; กรดโฟลิก 250 มิลลิกรัม; ไบโอดีน 40 มิลลิกรัม; โคบาลามีน 200,000 มิลลิกรัม; แมงกานีส 17.5 กรัม; สังกะสี 50 กรัม; เหล็ก 40 กรัม; คอปเปอร์ 60 กรัม; ไอโอดีน 0.63 กรัม; โคบอลต์ 0.35 กรัม; ซีลีเนียม 0.05 กรัม

การให้อาหารโดยให้ลูกสุกรหย่านมได้รับอาหาร และน้ำอย่างเต็มที่ (*ab libitum*) ตลอดระยะเวลาทดลอง (อายุ 4-10 สัปดาห์) โดยให้อาหารวันละ 3 เวลา คือ 7.00 12.00 และ 16.00 น. เมื่อลูกสุกรอายุ 5 สัปดาห์ ทำการผสมสารบ่งชี้ (โครมิกซ์ออกไซด์) ในระดับ 0.25 เปอร์เซ็นต์ของสูตรอาหาร เป็นระยะเวลา 7 วัน และทำการสุ่มเก็บตัวอย่างมูลที่มีสีเขียวของโครมิกซ์ออกไซด์ เพื่อศึกษาการย่อยได้ของโปรตีน พลังงาน และวัตถุแห้ง

3. การเก็บตัวอย่างและบันทึกข้อมูล

3.1 ทำการชั่งและบันทึกน้ำหนักตัวลูกสุกรทั้งหมด 3 ครั้ง ครั้งแรกเมื่อนำสุกรเริ่มเข้าทำการทดลอง (อายุ 4 สัปดาห์) ครั้งที่สองเมื่ออายุ 7 สัปดาห์ และครั้งสุดท้ายเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่อายุ 10 สัปดาห์ เพื่อใช้ในการศึกษาสมรรถภาพการผลิตของลูกสุกร

3.2 บันทึกปริมาณอาหารทั้งหมดที่กินและอาหารที่เหลือในแต่ละระยะการเจริญเติบโตของลูกสุกร เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการใช้อาหาร

3.3 การเก็บมูลสุกร ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างมูลใส่ถุงพลาสติก วันละ 2 ครั้ง เช้าและเย็น โดยเริ่มเก็บตั้งแต่มูลมีสีเขียวของโครมิกซ์ออกไซด์ปรากฏอย่างสม่ำเสมอ กระทั่งมูลหมดสีเขียวของโครมิกซ์ออกไซด์ นำตัวอย่างมูลเก็บไว้ในตู้แช่เย็นที่อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมูลมาผสมรวมกันจนเข้ากันดี นำไปตากแดดจนแห้ง แล้วนำมาอบจนแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาบดเพื่อรอการวิเคราะห์สารอาหารและความเข้มข้นของโครมิกซ์ออกไซด์ สำหรับใช้ในการคำนวณหาค่าการย่อยได้แบบปรากฏ (สมการที่ 1) (Adeola, 2001)

ค่าการย่อยได้แบบปรากฏ (%)

$$= 100 - 100 \left[\frac{\% \text{ โครมิกซ์ออกไซด์ในอาหาร} \times \% \text{ โภชนะในมูล}}{\% \text{ โครมิกซ์ออกไซด์ในมูล} \times \% \text{ โภชนะในอาหาร}} \right] \quad (1)$$

3.4 ทำการสุ่มเจาะเลือดลูกสุกรหย่านมที่อายุ 4 7 และ 10 สัปดาห์ซ้ำละ 4 ตัว (เพศผู้ตอน 2 ตัว และเพศเมีย 2 ตัว) เพื่อตรวจสอบค่าทางโลหิตวิทยา คือ ตรวจวัดค่าเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิด neutrophil, eosinophil, basophil, monocyte, lymphocyte และ neutrophil : lymphocyte ratio เพื่อเป็นตัวบ่งชี้ถึงสภาวะความเครียดของลูกสุกรหย่านม และทำการเตรียมซีรัมเพื่อตรวจ

3.4.1 วัดค่า Immune titer ต่อโรคอหิวาต์สุกร เพื่อศึกษาถึงความสามารถของสารสกัดหยาดจากพริกต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันโรคอหิวาต์สุกร

3.4.2 วัดปริมาณการเกิด lipid peroxidation ในรูป TBARs (Thiobarbituric Acid Reactive Substance) และการวัดค่า antioxidant capacity ในรูป DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) เพื่อศึกษาถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

3.4.3 วัดค่าทางชีวเคมีของโลหิตคือ ระดับเอนไซม์ซีรั่มกลูตามิกออกซาโลอะซีติกทรานซามิเนส (Serum glutamic oxaloacetic transaminase : SGOT), Blood Urea Nitrogen (BUN), Bilirubin และ Creatinine เพื่อตรวจสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากพริกต่อเนื้อเยื่อตับและไต

4. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD) นำข้อมูลที่ได้มาทำการวิเคราะห์หาความแปรปรวนร่วมโดยวิธี Analysis of Covariance (ANCOVA) และเปรียบเทียบค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยในแต่ละปัจจัยการทดลองโดยวิธี least square mean โดยหา Exact probability (pdiff) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS (1998) โดยมีแบบหุ่นทางสถิติ (Statistical model) ดังนี้

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta (X_{ij} - \bar{X}) + \varepsilon_{ij}$$

โดย

Y_{ij} = ลักษณะที่ต้องการศึกษาของระดับสารสกัดหยาบจากพริกในอาหารที่ i ซ้ำที่ j

μ = ค่าเฉลี่ยทั้งหมดในการทดลอง

τ_i = อิทธิพลของระดับสารสกัดหยาบจากพริกในอาหารที่ i โดย i = 1, 2, 3, 4, 5, 6

β = สัมประสิทธิ์รีเกรสชันของลักษณะที่ต้องการศึกษา เมื่อกำหนดตัวแปรร่วม

X_{ij} = ตัวแปรร่วมซึ่งเป็นสาเหตุของความผันแปรค่าสังเกตของระดับสารสกัดหยาบจากพริกในอาหารที่ i ซ้ำที่ j

$\bar{X}$ = ค่าเฉลี่ยของตัวแปรร่วม

ε_{ij} = ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง

5. การวิเคราะห์ทางเคมี

5.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโภชนะในอาหาร โดยวิธี Proximate analysis ตามวิธีของ A.O.A.C. (1990)

5.2 วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Kjeldahl method และวิเคราะห์หาปริมาณพลังงานโดยวิธี bomb calorimeter ในอาหารทดลอง และมูล ตามวิธีของ A.O.A.C. (1990)

5.3 วิเคราะห์หาความเข้มข้นของโครมิกซ์ออกไซด์ในอาหารทดลอง และมูลตามวิธีของ Bolin *et al.* (1952)

5.4 ตรวจวัดค่าเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาว neutrophil, eosinophil, basophil, lymphocyte และ neutrophil : lymphocyte ratio ตามวิธีของ เฉลียว (2540)

5.5 ตรวจวัดปริมาณการเกิด lipid peroxidation จากการวัดปริมาณ TBAR_s (thiobarbituric acid reactivity substances) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Asakawa and Matsushita (1980) และ Uchiyama and Mihara (1978) และปริมาณ DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) โดยดัดแปลงวิธีของ Ancerewicz *et al.* (1998) และ Papariello and Janish (1966)

5.6 ตรวจวัดเอ็นไซม์ซีรัมกลูตามิกออกซาลอะซีติกทรานซามิเนส (Serum glutamic oxaloacetic transaminase: SGOT) โดยวิธีการของ International Federation of Clinical Chemistry, IFCC (1986) ตรวจวัดค่า Blood Urea Nitrogen (BUN) โดยวิธีการของ Tiffany *et al.* (1972) และ Creatinine โดยวิธีการของ Fabing and Ertinghausen (1971) และตรวจวัดค่า Bilirubin โดยวิธีการ Freitag (1987)

5.7 ตรวจวัดระดับแอนติบอดีต่อไวรัสโรคหิวาต์สุกร โดยวิธี Neutralizing Peroxidase Linkage Assay (NPLA) ตามวิธีการของ วาสนา (2543)

6. สถานที่ทำการทดลอง

1. ฟาร์มไก่หลวงสุวรรณวาจกกสิกิจ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ

2. วิเคราะห์หาโภชนะต่าง ๆ ในอาหาร (proximate analysis) ณ ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

3. การตรวจสอบค่าทางโลหิตวิทยา ค่าเม็ดเลือดขาว ที่หน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

4. ตรวจวัดค่าชีวเคมีในเลือดที่ห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยา โรงพยาบาลสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

5. ตรวจวัดระดับแอนติบอดีต่อโรคหิวาต์สุกร ที่หน่วยชันสูตร คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6. ตรวจวัดปริมาณการเกิด lipid peroxidation โดยการวัดปริมาณ TBAR_s (thiobarbituric acid reactivity substances) และปริมาณ DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) ที่ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

7. ระยะเวลาทำการทดลอง

เริ่มต้นการทดลอง: ธันวาคม 2548

สิ้นสุดการทดลอง: พฤษภาคม 2549

8. แหล่งทุนสนับสนุน

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)