ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (การผลิตสัตว์)

ปริญญา

การผลิตสัตว์ | สัตวบาล

สาขา | **ภาควิชา**

เรื่อง ผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร

Effect of Dietary Chitooligosaccharide Supplementation on Boar Semen Quality

นามผู้วิจัย นายธนกร เพชรพุ่มพวง

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

(รองศาสตราจารย์ศรีสุวรรณ ชมชัย, วท.ม.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(รองศาสตราจารย์วาณี ชัยวัฒนสิน, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสกสม อาตมางกูร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

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

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหาร ต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร

Effect of Dietary Chitooligosaccharide Supplementation on Boar Semen Quality

โดย

นายธนกร เพชรพุ่มพวง

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (การผลิตสัตว์)
พ.ศ. 2553

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ธนกร เพชรพุ่มพวง 2553: ผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (การผลิตสัตว์) สาขาการผลิตสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ศรีสุวรรณ ชมชัย, วท.ม. 57 หน้า

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร ใช้พ่อสุกรพันธุ์ดูรอค จำนวน 15 ตัว อายุเฉลี่ย 24 เดือน แบ่งการทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ตัว พ่อพันธุ์สุกรทุกกลุ่มได้รับอาหารสำหรับเลี้ยงพ่อพันธุ์สุกรเป็นอาหารควบคุมแล้วเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ดังนี้ กลุ่มที่ 1 อาหารควบคุมไม่เสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (กลุ่มควบคุม) กลุ่มที่ 2 เสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์สูตร 1 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวันและกลุ่มที่ 3 เสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์สูตร 2 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวัน จากผลการทดลองพบว่า พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มที่ 2 และ กลุ่มที่ 3 มีเปอร์เซ็นต์ progressive movement, อัตราเร็วในการเคลื่อนที่เฉลี่ยเป็นเส้นตรงจากจุดเริ่มต้นถึงจุดสุดท้ายของตัวอสุจิสูงกว่า และมีเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติในส่วนของหัวอสุจิ ต่ำกว่าพ่อพันธุ์สุกรในกลุ่มควบคุมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และมีเปอร์เซ็นต์ live sperm สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) และพบว่า สีของน้ำเชื้อ ความเป็นกรด-ด่าง ความเข้มข้นของตัวอสุจิ ปริมาตรของน้ำเชื้อ จำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในน้ำเชื้อ เปอร์เซ็นต์ motile sperm อัตราเร็วในการเคลื่อนที่เป็นเส้นโค้ง อัตราเร็วในการเคลื่อนที่เป็นแนวตรงเมื่อเทียบกับการเคลื่อนที่จริงของตัวอสุจิ เปอร์เซ็นต์ความผิดปกติที่ส่วนหางและ cytoplasmic droplet ของพ่อพันธุ์สุกรทั้ง 3 กลุ่ม แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเซมินัลพลาสมา พบว่า ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ของพ่อพันธุ์ทั้ง 3 กลุ่ม แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

_____ / / _____

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Thanakorn Petchpumpoung 2010: Effect of Dietary Chitooligosaccharide Supplementation on Boar Semen Quality. Master of Science (Animal Production), Major Field: Animal Production, Department of Animal Science. Thesis Advisor: Associate Professor Srisuwan Chomchai, M.S. 57 pages.

The experiment was conducted to investigate the effect of dietary chitooligosaccharide supplementation on boar semen quality. Fifteen Duroc boars, average 24 months of age, were allocated randomly into 3 treatments. Each treatment consisted of five boars. All treatments were fed with boar diet (basal feed). The boars in treatment 1 were provided with basal feed (control group), treatment 2 basal feed + 200 ppm/day of chitooligosaccharide formula 1 and treatment 3 basal feed + 200 ppm/day of chitooligosaccharide formula 2 in the diet. The results indicated that the boars in treatment 2 and 3 had higher percentage of progressive movement, straight line velocity (VSL), and lower percentage of abnormal sperm head ($P<0.05$) than control group and the boars in treatment 2 and 3 had higher percentage of live sperm ($P<0.01$) than control group. There were not significant difference ($P>0.05$) of color, pH, sperm concentration, semen volume, total sperm per ejaculation, motile sperm, average path velocity (VAP), curvilinear velocity (VCL), percentage of abnormal sperm tail and cytoplasmic droplet among treatment. Percentage of antioxidant activity in seminal plasma of the boars in all treatment were not significantly different ($P>0.05$).

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ศรีสุวรรณ ชมชัย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก รองศาสตราจารย์ ดร. วาณี ชัยวัฒนสิน ที่กรุณาให้คำปรึกษาด้านการศึกษาตลอดจนการทำวิทยานิพนธ์และข้าพเจ้าขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สมิต ยิ้มมงคล ประธานการสอบและรองศาสตราจารย์ ดร. พิพัฒน์ สมภาร ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาให้คำแนะนำ การแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติ สถาบันสุวรรณวาจกสิกิจที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการเลี้ยงสัตว์ทดลอง รวมทั้งบุคลากรในศูนย์วิจัยฯ ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกจนงานวิจัยแล้วเสร็จ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการคณะสัตวแพทยศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และให้คำแนะนำ

ขอขอบพระคุณ คุณแม่อธิชา เพชรพุ่มพวง ผู้ที่คอยเป็นกำลังใจข้าพเจ้า คอยปลอบโยนเวลาที่ข้าพเจ้าท้อแท้ ให้ข้าพเจ้ามีความมุมานะให้ศึกษาจนจบการศึกษา มีความตั้งใจอย่างยิ่งในการส่งเสริมด้านการศึกษาให้แก่ลูกๆ คอยเป็นกำลังใจให้ข้าพเจ้าจนสำเร็จดังความตั้งใจ ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่อบรมสั่งสอนจนได้สำเร็จการศึกษา และขอบคุณพี่น้องและเพื่อนทุกๆ คนที่ให้กำลังใจและช่วยเหลือด้วยดีตลอดมา

ธนกร เพชรพุ่มพวง

กันยายน 2553

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	29
อุปกรณ์	29
วิธีการ	31
ผลและวิจารณ์	36
สรุปและข้อเสนอแนะ	45
สรุป	45
ข้อเสนอแนะ	46
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	47
ภาคผนวก	54
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	57

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	องค์ประกอบทางกายภาพและทางเคมีของน้ำเชื้อสุกร	6
2	ค่าปกติของน้ำเชื้อพ่อสุกร	11
3	แสดงการเปรียบเทียบผลของการได้รับไคโตซานเป็นสารเร่งการเจริญเติบโตในสุกร	26
4	ผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร	39
5	การเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ต่อความผิดปกติของตัวอสุจิ	43
6	ผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ต่อความมาสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเซมินัล พลาสมา	44

ตารางผนวกที่

1	ส่วนประกอบของอาหารควบคุม	55
2	สูตรสารละลายน้ำเชื้อ NSRTC 4	56

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ภาพตัดขวางของท่อเซมินิเฟอรัสทูบูล	7
2	ขั้นตอนการแบ่งเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้	9
3	ปฏิกิริยาการเปลี่ยนซูเปอร์ออกไซด์ แอนไอออนโดยเอนไซม์ ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส	19
4	ปฏิกิริยาการเปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยเอนไซม์แคทาเลส	19
5	ปฏิกิริยาการเปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยเอนไซม์ กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส	20
6	โครงสร้างของ ไคติน-ไคโตซาน	22

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร

The Effect of Dietary Chitooligosaccharide Supplementation on Boar Semen Quality

คำนำ

ปัจจุบันการผลิตสุกรในประเทศไทยผู้เลี้ยงสุกรส่วนใหญ่ ได้ยอมรับเอาวิธีการผสมเทียมมาใช้แทนที่การผสมพันธุ์ตามแบบธรรมชาติมากยิ่งขึ้น การผสมเทียมสุกรจะประสบความสำเร็จได้นั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง ปัจจัยที่สำคัญอย่างหนึ่งคือ พ่อพันธุ์สุกร ซึ่งเป็นแหล่งผลิตน้ำเชื้อเพื่อใช้ในการผสมพันธุ์ น้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกรจะมีคุณภาพดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างเช่น สุขภาพของพ่อพันธุ์สุกร การจัดการเรื่องอุณหภูมิภายในโรงเรือนพ่อพันธุ์ อายุและการใช้งานพ่อพันธุ์ การจัดการเรื่องอาหารทั้งวิธีการให้อาหารและคุณภาพของอาหาร สิ่งต่างๆเหล่านี้มีผลต่อคุณภาพของน้ำเชื้อพ่อพันธุ์สุกรทั้งสิ้น นอกจากนี้ยังอาจจะขึ้นอยู่กับความผิดปกติของตัวพ่อพันธุ์เอง การใช้น้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกรในการผสมเทียมให้กับแม่พันธุ์สุกร ได้มีการพัฒนาเทคโนโลยีการผสมเทียมหลายอย่าง เช่น เทคโนโลยีของอุปกรณ์ในการผสมเทียม เทคโนโลยีทางด้านการควบคุมการเป็นสัดของแม่พันธุ์สุกร เทคโนโลยีทางด้านการแยกอสุจิเพศผู้ เทคโนโลยีในการทำน้ำเชื้อแช่แข็งเป็นต้น การพัฒนาในเรื่องความต้องการพ่อพันธุ์ที่ใช้ในการรีดน้ำเชื้อเป็นอีกเรื่องหนึ่งที่จะช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพการให้น้ำเชื้อของพ่อพันธุ์ได้ดียิ่งขึ้น พ่อพันธุ์สุกรนอกจากจะนำอาหารไปใช้เพื่อการดำรงชีวิตและการเจริญเติบโตแล้ว ยังต้องนำไปใช้เพื่อสร้างอสุจิด้วย จะเห็นว่าถ้าพ่อสุกรได้รับสารอาหารไม่เพียงพอ อาจจะมีผลทำให้ตัวอสุจิลดลง ทำให้ลูกอัณฑะฝ่อลง การเคลื่อนไหวของตัวอสุจิช้าลง และอาจจะทำให้ถึงวัยเจริญพันธุ์ได้ช้าลงอีก ความต้องการสารอาหารของพ่อพันธุ์สุกรจะแตกต่างกันไป ในระยะที่ไม่ได้เก็บน้ำเชื้อ หรือพ่อพันธุ์สุกรไม่ได้ผสมพันธุ์ ควรจะให้สารอาหารที่เพียงพอกับความต้องการของร่างกาย แต่ในระยะที่มีการใช้งานหรือในระยะที่รีดเก็บน้ำเชื้อประจำ ความต้องการสารอาหารของพ่อพันธุ์สุกรจะเพิ่มขึ้น นอกจากพ่อพันธุ์สุกรจะได้รับอาหารสูตรปกติตามความต้องการแล้ว การเสริมแร่ธาตุและวิตามินที่จำเป็นสำหรับพ่อพันธุ์สุกรให้เพิ่มอีก จะช่วยทำให้พ่อพันธุ์สุกรสามารถผลิตน้ำเชื้อที่มีคุณภาพดีขึ้นกว่าปกติได้ เช่น แคลเซียม ฟอสฟอรัส โซเดียม เหล็ก สังกะสี ซีลีเนียม ไอโอดีน โครเมียม แอล-คาร์นิทีน วิตามินเอ และวิตามินอี เป็นต้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์เป็นอนุพันธ์ของไคตินและไคโตซานโดยเป็นสารสกัดจากเปลือกกุ้ง กระดองปู ซึ่งเป็นสารสกัดจากธรรมชาติ 100 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีสารพิษเจือปน ที่มีทั้งสายโมเลกุลยาวและสั้น โดยผ่านกระบวนการผลิตถึง 3 เทคโนโลยีอันประกอบด้วยไคโตเทคโนโลยี นาโนเทคโนโลยี และไบโอเทคโนโลยี โดยเอ็นไซม์จากธรรมชาติ จึงทำให้มีความบริสุทธิ์มากกว่าและมีขนาดที่เล็กกว่าไคโตซานทั่วไป 1,000 เท่า สัตว์จึงสามารถดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดได้เร็วและนำไปใช้ประโยชน์ได้ทันที ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีฤทธิ์ในการช่วยต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย ช่วยเพิ่มการดูดซึมสารอาหาร และขับสารพิษออกจากร่างกายสัตว์ ทำให้สัตว์มีระบบการขับถ่ายที่ดี ส่งผลให้สัตว์แข็งแรง มีความต้านทานโรคสูง ไม่มีพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อม ไคโตโอลิโกแซค-คาไรด์เมื่อนำมาผสมในอาหารเพื่อให้พ่อสุกรกินอาจจะช่วยในการสร้างเนื้อเยื่อในลูกอัณฑะของพ่อพันธุ์สุกรได้ ซึ่งอาจทำให้พ่อพันธุ์สุกรผลิตน้ำเชื้อได้เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากมีคุณสมบัติในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันและเร่งการเจริญเติบโตในสุกร นอกจากนี้ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ยังมีคุณสมบัติในการช่วยรักษาสภาพผนังของเซลอสุจิให้คงอยู่ได้นานขึ้น การทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารพ่อพันธุ์สุกรต่อคุณภาพน้ำเชื้อ ซึ่งเป็นอีกเทคโนโลยีหนึ่งที่จะนำมาใช้ในการเพิ่มประสิทธิภาพในการผสมเทียมสุกรให้สูงขึ้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของการเสริม ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ในอาหารต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร

2. เพื่อศึกษาผลของการเสริม ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ในอาหารต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ในเซมินัลพลาสมาของน้ำเชื้อพ่อพันธุ์สุกร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจเอกสาร

น้ำเชื้อ

1. องค์ประกอบของน้ำเชื้อ

น้ำเชื้อ ประกอบด้วย เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้หรือตัวอสุจิ (spermatozoa) และส่วนของเหลวหรือเซมินัลพลาสมา (seminal plasma) (Hafez, 1993) โดยตัวอสุจิเกิดจากกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ ซึ่งตัวอสุจิจะถูกสร้างขึ้นมาเมื่ออายุได้ 80-150 วัน และหลั่งน้ำเชื้อได้เมื่ออายุ 5.5-6 เดือน และประกอบด้วยส่วนของน้ำกาม (seminal plasma) (ศรีสุวรรณ, 2542) ซึ่งสร้างมาจากต่อมร่วมสร้างน้ำกามต่างๆ ได้แก่ ต่อมน้ำกาม (seminal vesicles) ต่อมนี้ผลิตของเหลวออกมา 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำกาม ซึ่งของเหลวประกอบด้วย น้ำตาลฟรุคโตสและซอบิ-ทอล นอกจากนี้ยังมีโปรตีน โปแตสเซียม กรดซิตริก ต่อมลูกหมาก (prostate gland) ทำหน้าที่ผลิตน้ำล้างท่อปัสสาวะและแร่ธาตุต่าง ๆ เช่น โซเดียม โคลีน และยังผลิตสารละลายป้องกันตัวอสุจิจากการถูกจับให้เป็นชั้นและต่อมข้างท่อปัสสาวะ (cowper's glands หรือ bulbo urethral glands) ต่อมนี้จะผลิตสารหล่อลื่นผลิตวัตถุเหลวใส เพื่อชะล้างท่อปัสสาวะก่อนที่น้ำเชื้อจะผ่านออกและยังผลิตเม็ดสาคูเพื่ออุดตันปากช่องคลอดของแม่สุกรไม่ให้น้ำเชื้อไหลกลับหลังการผสมพันธุ์ (ศรีสุวรรณ, 2542)

ตัวอสุจิ (spermatozoa) คือ เซลล์ที่ทำหน้าที่ในการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของเพศผู้ ถูกผลิตในท่อเซมินิเฟอรัส (seminiferous tubule) ของอัณฑะโดยขบวนการสร้างอสุจิ (spermatogenesis) อสุจิจะถูกส่งมาเก็บสะสมไว้ที่ท่อพักอสุจิ (epididymis) ในส่วนนี้อสุจิมีการพัฒนาเปลี่ยนแปลงเป็นอสุจิที่สมบูรณ์และพร้อมหลั่งออกนอกร่างกาย (ejaculation) (Hafez, 1993) การผลิตอสุจิถูกกระตุ้นโดยฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองส่วนหน้า คือ ลูติไนซิงฮอร์โมน (luteinizing hormone; LH) และฟอลลิเคิลสติมูลเลติงฮอร์โมน (follicle stimulating hormone; FSH) โดยฮอร์โมน LH มีผลกระตุ้นการเจริญเติบโตของอินเตอร์สติเลียล (interstitial) หรือเซลล์เลดิก (Leydig cell) ซึ่งเซลล์เลดิกทำหน้าที่ในการหลั่งฮอร์โมนเทสทอสเตอโรน (testosterone) และฮอร์โมนเทสทอสเตอโรนมีผลกระตุ้นท่อเซมินิเฟอรัสให้ทำหน้าที่ผลิตตัวอสุจิ และนอกจากนี้ฮอร์โมนเทสทอสเตอโรนยังมีผลต่อการเจริญเติบโต การพัฒนา และการทำงานของต่อมร่วมต่างๆ ได้แก่ seminal vesicle, prostate gland และ Cowper's gland หรือ bulbo-urethal gland ส่วนฮอร์โมน FSH มีผลต่อขบวนการสร้างตัวอสุจิ (Hafez, 1970)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ส่วนของเหลว เป็นสารคัดหลั่งจากต่อมร่วมต่างๆ (accessory glands) ของระบบสืบพันธุ์เพศผู้ ทำให้น้ำเชื้อมีปริมาตรมาก และมีส่วนสำคัญในการพาอสุจิจากระบบสืบพันธุ์เพศเมียขณะผสมพันธุ์ และทำหน้าที่ปกป้องอสุจิด้วย (Hafez, 1993) นอกจากนี้เซมินัลพลาสมาทำหน้าที่เป็นสารที่ปรับสภาพความเป็นกลาง (buffer medium) และเป็นแหล่งพลังงานของตัวอสุจิ โดยปกติเซมินัลพลาสมามีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ประมาณ 7.0 และมีแรงดันเท่ากับแรงดันเลือด (เกลือ NaCl 0.9%) (Hafez, 1974) เซมินัลพลาสมาประกอบด้วย โซเดียม โปตัสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม อินอซิทอล (inositol) ฟรักโตส ซอร์บิทอล (sorbital) กรดซิตริค (Citric acid) กลีเซอโรฟอสฟอริลโคลีน (glycerophosphorylcholine; GPC) เออโกไทโอนีน (ergothionine) อยู่ในระดับสูง นอกจากนี้ยังมี กรดแอสโคบิค (ascorbic acid) กรดอะมิโน เปปไทด์ โปรตีน ไลปิด (lipid) กรดไขมัน (fatty acid) และเอนไซม์ (enzyme) ในปริมาตรมากเช่นกัน ปริมาตรส่วนประกอบของเซมินัลพลาสมาขึ้นอยู่กับจำนวนและขนาดของต่อมร่วม ในเซมินัลพลาสมายังมี antimicrobial ซึ่งประกอบด้วย seminalplasmin และ immunoglobulin ที่สำคัญคือ IgA class และนอกจากนี้ยังประกอบด้วยฮอร์โมนหลายชนิด ได้แก่ แอนโดรเจน (androgen) อีสโตรเจน (estrogen) โปรสตาแกลนดิน (prostaglandins) FSH LH โคริโอนิกโกนาโดโทรปินไลท์มาเทอเรียล (chorionic gonadotropin-like material) ฮอร์โมนควบคุมการเจริญเติบโต (growth hormone) อินซูลิน (insulin) กลูคากอน (glucagon) โปรแลคติน (prolactin) รีแลคซิน (relaxin) ไทรอยด์รีรีสซิงฮอร์โมน (thyroid-releasing hormone) เอนเคปาลิน (enkephalins) (Hafez, 1993) และฮอร์โมนออกซิโตซิน (Watson *et al.,* 1999)

2. กระบวนการสร้างตัวอสุจิ

กระบวนการสร้างตัวอสุจิ (spermatogenesis) เป็นกระบวนการที่สเปอร์มาโตโกเนีย (spermatogonia) มีการพัฒนาจนกลายเป็นสเปอร์มาโตซัว (spermatozoa) กระบวนการดังกล่าวเกิดขึ้นใน ท่อเซมินิเฟอรัสทูบูล (seminiferous tubules) ที่อยู่ในอันฑะ (สุรชัย, 2545) ท่อเซมินิเฟอรัสทูบูล มีลักษณะเป็นท่อเล็ก ๆ ขดไปมาอยู่ภายในลูกอัณฑะ ภายในท่อเซมินิเฟอรัสทูบูลประกอบด้วย เจิมเซลล์ (germ cell) หรือ สเปอร์มาโตโกเนีย มีขนาดกลมเล็กและมีจำนวนมาก และเซอร์โทไลเซลล์ (sertoli cell) เป็นเซลล์มีขนาดใหญ่และมีปริมาณน้อย ซึ่งเซลล์เหล่านี้ทำหน้าที่ผลิตตัวอสุจิโดยจะผลิตตลอดเวลา (ศรีสุวรรณ, 2542) จากภาพที่ 1 ส่วนของท่อเซมินิเฟอรัสทูบูล แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของ สเปอร์มาโตโกเนีย ที่อยู่ใกล้ เซอร์โทไลเซลล์ การสร้าง สเปอร์มาโตซัว เกิดขึ้นบริเวณผนังเซลล์ของ ท่อเซมินิเฟอรัสทูบูล ใกล้เยื่อบุผิวเบสเมนท์ เมมเบรน ซึ่งเป็นบริเวณที่สเปอร์มาโตโกเนีย เริ่มมีการแบ่งตัว และได้เป็น ไพรมารี่ สเปอร์มาโตไซต์ (primary spermatocyte)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

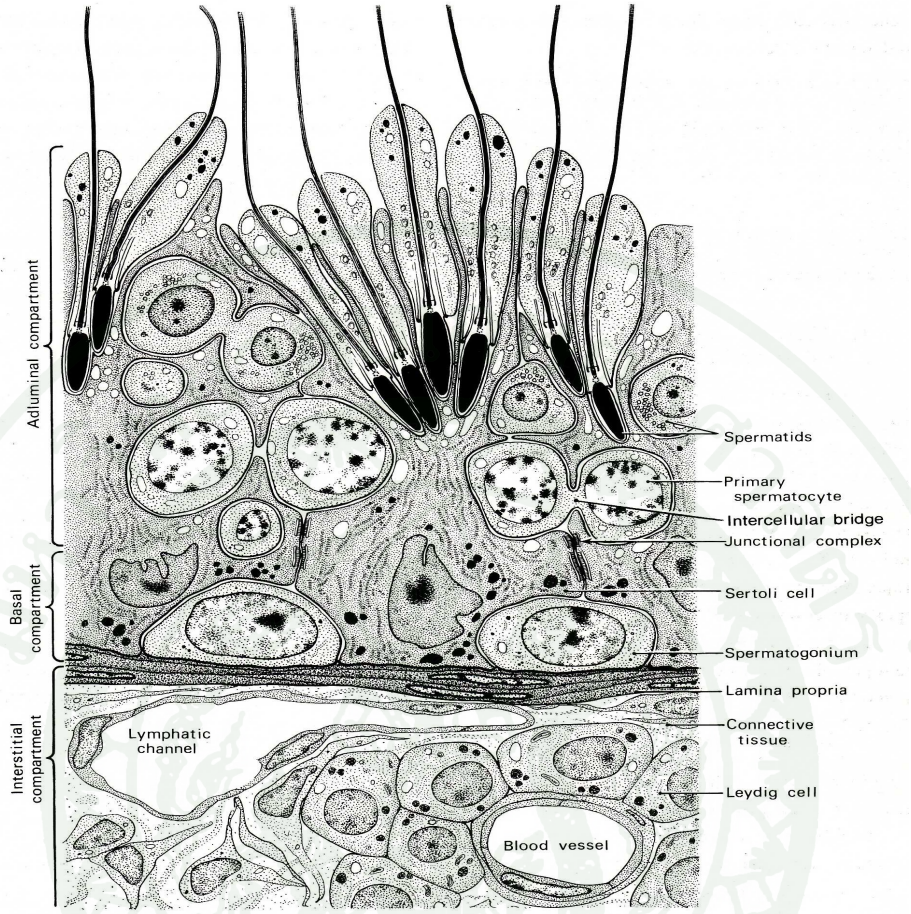
เซคันดารี่ สเปอร์มาโตไซต์ (secondary spermatocyte) สุดท้ายได้เป็น สเปอร์มาทิด (spermatid) (Senger, 1999)

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางกายภาพและทางเคมีของน้ำเชื้อสุกร

Characteristic on component	Range
Ejaculate volume (ml)	150-200
Sperm concentration (million/ml)	200-300
Sperm/ejaculation (billion)	30-60
Motile sperm (%)	50-80
Morphologically normal sperm (%)	70-90
Protein (g/100 ml)	3.7
pH	7.3-7.8
Fructose (mg/100 ml)	9
Sorbital (mg/100 ml)	6-18
Citric acid (mg/100 ml)	173
Inositol (mg/100 ml)	380-630
Glycerophosphorylcholine (mg/100 ml)	110-240
Ergothioneine (mg/100 ml)	17
Sodium (mg/100 ml)	587
Potassium (mg/100 ml)	197
Calcium (mg/100 ml)	6
Magnesium (mg/100ml)	5-14
Chloride (mg/100 ml)	260-430

ที่มา: Hafez (1993)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 1 ภาพตัดขวางของท่อเซมินิเฟอรัสทูบูล
ที่มา: Senger (1999)

สุกรเพศผู้จะเริ่มผลิตตัวอสุจิขั้นแรก (primary spermatocyte) ในลูกอัณฑะเมื่ออายุได้ประมาณ 3 เดือน หลังจากเกิดมาแล้ว การผลิตอสุจิขั้นที่ 2 (secondary spermatocyte) เมื่อเริ่มอายุได้ประมาณ 4-5 เดือน และจะมีตัวอสุจปรากฏขึ้นเมื่ออายุประมาณ 5-6 เดือน แต่อสุจิระยะนี้ยังไม่สมบูรณ์ เมื่ออายุได้ประมาณ 6-7 เดือน จะเริ่มมีตัวอสุจิที่สมบูรณ์พันธุ์แล้ว แต่มีปริมาณน้อยอยู่ ถ้าหากตรวจพบอสุจิของสุกรเพศผู้เมื่ออายุเท่าไรจะแสดงถึงการย่างเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ (Puberty) ของสุกร (ศรีสุวรรณ, 2542) อัตราการผลิตตัวอสุจิในสุกรจะมีประมาณ 25-30 ล้านตัวต่อกรัมของเนื้อลูกอัณฑะต่อวัน และเมื่อคิดคำนวณเป็นต่อวันมีการผลิตตัวอสุจิในพ่อสุกรประมาณ 5,600-14,000 ล้านตัวต่อวัน (อรรณพ, 2545) กระบวนการสร้างตัวอสุจิเกิดขึ้นในท่อเซมินิเฟอรัสทูบูล ที่อยู่ในอัณฑะ การสร้างตัวอสุจิของพ่อสุกรทั้งหมดกินเวลา 34.4 วัน และการเคลื่อนย้ายตัวอสุจิไปพักยังท่ออีพิดิ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ไดมีส (epidymis) จะใช้เวลา 9-12 วัน (ศรีสุวรรณ, 2542) กระบวนการสร้างตัวอสุจิแบ่งได้เป็น 2 ขั้นตอน ดังนี้

2.1 ระยะการแบ่งเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (spermatocytogenesis)

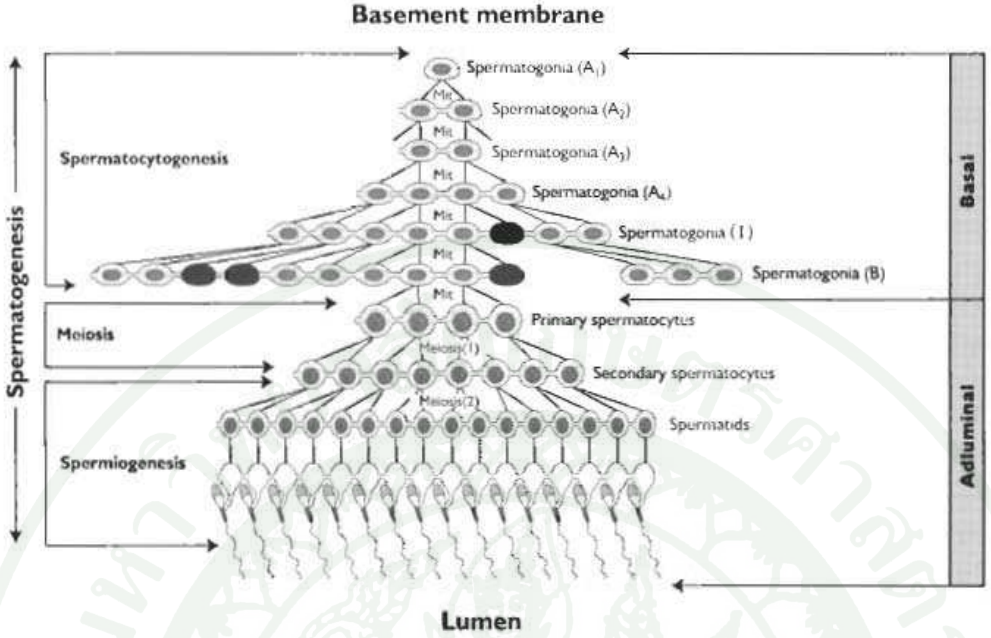
กระบวนการนี้เริ่มจากในตอนที่สัตว์ยังอายุน้อย มีการเจริญเติบโตของอวัยวะสืบพันธุ์ขึ้นมา เมื่อเข้าสู่วัยหนุ่มสาว ในสัตว์เพศผู้จะมีเซลล์สืบพันธุ์ดั้งเดิม (gonocyte) อยู่ในอัณฑะที่บริเวณท่อผลิตอสุจิ เซลล์สืบพันธุ์ดั้งเดิมเหล่านี้เจริญขึ้นเป็นสเปอร์มาโตโกเนีย สเปอร์มา-โตโกเนียมี 3 ชนิดใหญ่ๆ คือ ชนิดเอ (A-spermatogonia) ชนิดไอ (I-spermatogonia) ชนิดบี (B- spermatogonia) สเปอร์มาโตโกเนียชนิด A_0 แบ่งตัวได้สเปอร์มาโตโกเนียชนิด A_1 ถึง ชนิด A_4 ต่อจากนั้นสเปอร์มาโตโกเนียชนิด A_4 แบ่งตัวไปเป็นสเปอร์มาโตโกเนียชนิดไอเอ็น แล้วจึงเจริญไปเป็นสเปอร์มาโตโกเนียชนิดบี เป็นการแบ่งเซลล์แบบไมโตซีส (mitosis) ซึ่งจะแบ่งตัวอย่างน้อย 1 ครั้ง แล้วจึงกลายเป็นไพรมารี่ สเปอร์มาโตไซต์ และเจริญเป็นเซคันดารี่ สเปอร์มาโตไซต์ มีการลดโครโมโซมในนิวเครียสลงมาครึ่งหนึ่ง ทำให้เซคันดารี่ สเปอร์มาโตไซต์มีโครโมโซมเป็นครึ่งหนึ่ง (haploid) ของเซลล์ร่างกาย ซึ่งเซคันดารี่ สเปอร์มาตัวไซต์มีการแบ่งตัวอีกครั้งโดยไม่มีการเพิ่มจำนวนโครโมโซมกลายเป็น สเปอร์มาทิด (พีรศักดิ์, 2548; Senger, 1999) ดังแสดงในภาพที่ 2

2.2 ระยะการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอสุจิ (spermiogenesis)

ในระยะนี้เป็นการเจริญของสเปอร์มาทิดไปเป็นตัวอสุจิ โดยมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง มีการสร้างหางและอะโครโซม (acrosome) สุรชัย (2545); พีรศักดิ์ (2548); Senger (1999) รายงานว่าการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอสุจิแบ่งได้เป็น 4 ระยะ ดังนี้

ระยะที่ 1 กอลไจเฟส (golgi phase) เป็นระยะแรกในการพัฒนาอะโครโซมโดยมีการรวมกลุ่มของเม็ดขนาดเล็ก (granule) ซึ่งอยู่ในกอลไจ แอพพาราทัส (golgi apparatus) กลายเป็นเม็ดอะโครโซม (acrosome granule) ติดกันอยู่รอบๆ นิวเคลียสของสเปอร์มาทิด และระยะนี้จะเริ่มมีการเจริญของหางในด้านตรงข้ามกับเม็ดอะโครโซม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 2 ขั้นตอนการแบ่งเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้
ที่มา: Senger (1999)

ระยะที่ 2 แคปเฟส (cap phase) ระยะนี้กลุ่มเม็ดอะโครโซมจะกระจายล้อมรอบนิวเคลียสของสเปอร์มาทิด เป็นชั้นบางๆ 2 ชั้น มีลักษณะคล้ายหมวก กินเนื้อที่ประมาณ 2 ใน 3 ส่วนของนิวเคลียส และมีการเจริญของหาง (axoneme) เพิ่มมากขึ้น โดยพรอกซิมอล เซนทริโอล (proximal centriol) เป็นส่วนที่เชื่อมส่วนหัวของตัวอสุจิเข้ากับส่วนหางและดิสตัล เซนทริโอล (distal centriol) จะก่อรูปเป็นหางโดยมีการยืดยาวออกมา โดยมีโครงสร้างเป็นท่อใหญ่ตรงกลาง 1 ท่อ และท่อเล็ก ๆ 9 ท่อ ล้อมรอบ

ระยะที่ 3 อะโครโซมเฟส (acrosome phase) ในระยะนี้มีการเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียส อะโครโซมและหาง โดยนิวเคลียสจะเคลื่อนตัวจากตำแหน่งที่อยู่ในบริเวณจุดศูนย์กลางมาอยู่ที่บริเวณขอบของเซลล์ มีการรวมตัวของโครมาทิน (chromatin) และมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของนิวเคลียสจากรูปกลมให้เป็นรูปยาวขึ้นและแบนลง อะโครโซมจะเปลี่ยนรูปร่างไปตามการเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสและยังคงมีลักษณะเป็นหมวกหุ้มนิวเคลียสอยู่เช่นเดิม การเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสถูกควบคุมโดยเซลล์เซอร์โทไล ซึ่งส่งผลทำให้สเปอร์มาทิดในสัตว์ชนิดต่าง ๆ มีส่วนหัวของอสุจิแตกต่างกันออกไปเป็นลักษณะเฉพาะตัว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สำหรับการเปลี่ยนแปลงที่นิวเคลียส ส่วนหางมีการเจริญขึ้นโดยไซโตพลาสซึมของเซลล์มีการเคลื่อนไปทางส่วนท้ายและห่อหุ้มหางเป็นรูปทรงกระบอก ในส่วนของไซโทพลาสซึมจะมีท่อเล็ก ๆ อยู่ เรียกไซโตพลาสซึมและท่อเล็กๆรวมกันว่า แมนเชตเท (manchette) เป็นส่วนที่ต่อมาจากด้านท้ายของอะโครโซม ส่วนนี้จะห่อหุ้มส่วนหางไว้อย่างหลวมๆ และในแมนเชตเทนั้นมีโครงสร้างที่เป็นไซโตพลาสซึมที่เรียกว่า โครมาทินบอดี (chromatin body) ซึ่งรวมกลุ่มกันและหนาตัวขึ้นรอบ ๆ หาง ส่งผลให้เกิดเป็นวงแหวน เรียกว่า แอนนูลัส (annulus) เกิดขึ้นใกล้กับพรอกซิมอล เซนทริโอล และจะค่อยๆ เคลื่อนตัวมาทางท้ายของส่วนหาง สำหรับไมโตคอนเดรียซึ่งเป็นแหล่งพลังงานของเซลล์จะกระจายอยู่ทั่วไปในไซโทพลาสซึม และรวมตัวกันใกล้บริเวณส่วนหาง กลายเป็นแผ่นอยู่รอบหางส่วนมิดพีชของสเปอร์มาทิด

ระยะที่ 4 แมนทรูเรชันเฟส (maturation phase) ในระยะนี้มีการพัฒนาเพื่อให้โตเต็มวัย เช่น เกิดการหุ้มของไมโตคอนเดรียซีท และการเจริญของไฟบรัสซีท หุ้มพันรอบหาง ในระยะนี้ถ้าตัวอสุจิยังเกาะติดอยู่กับเซลล์เซอร์โทไล จะยังมีไซโตพลาสมิค ดรอปเลท (cytoplasmic droplet) บริเวณหางส่วนมิดพีช และจะสลายตัวไปเมื่อเคลื่อนตัวหลุดออกจากเซลล์เซอร์โทไลเพื่อผ่านไปยังท่ออีพิดิส

3. คุณภาพของน้ำเชื้อ

คุณภาพของน้ำเชื้อมีความสำคัญต่อการนำไปใช้ประโยชน์ การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อจึงเป็นการประเมินคุณภาพของอสุจิ โดยอาศัยลักษณะต่าง ๆ ได้แก่ ปริมาตร สี ความเป็นกรดเป็นด่าง อสุจิที่เคลื่อนไหวได้หรือมีชีวิต ความเข้มข้นของน้ำเชื้อ ความผิดปกติของตัวอสุจิ โดยการย้อมสีเพื่อดูตัวเป็น ตัวตาย และเพื่อดูรูปร่างและความผิดปกติของตัวอสุจิ โดยปกติแล้วน้ำเชื้อสดจะพบความผิดปกติของตัวอสุจิประมาณร้อยละ 20 และสำหรับน้ำเชื้อแช่แข็งพบความผิดปกติของตัวอสุจิประมาณร้อยละ 50 ความผิดปกติที่พบมาก คือ บริเวณอะโครโซม (ศรีสุวรรณ, 2542) โดยค่าปกติของน้ำเชื้อพ่อสุกร เป็นค่าที่บ่งชี้หลังจากการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อซึ่งมีความผิดปกติไปจากน้ำเชื้อทั่วไปหรือไม่ ดังแสดงในตารางที่ 1

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 2 ค่าปกติของน้ำเชื้อพ่อสุกร

	ค่าเฉลี่ย	ช่วง
ปริมาตร (มล.)	250	100-500
ความเป็นกรดด่าง	7.5	7.3-7.8
ความเข้มข้น (ล้านตัว ต่อ มล.)	100	25-300
ตัวอสุจิทั้งหมดต่อการหลั่ง (10^9)	25	10-100
การเคลื่อนไหวเฉพาะตัว (%)	70	60-90
ตัวอสุจิปกติ (%)	ไม่น้อยกว่า 80	70-90
ตัวอสุจิผิดปกติ (%)	ไม่เกิน 20	5-20
- ความผิดปกติของส่วนหัว (%)	3	2-5
- มีความผิดปกติของส่วนกลางลำตัว (%)	3	2-5
- ความผิดปกติของส่วนหาง (%)	2.5	1-5
- มีหยดน้ำ (%)	2.5	1-5

ที่มา: อรรณพ (2545)

4. การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ

การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อมีความสำคัญต่อการศึกษาความสามารถในการอยู่รอดของอสุจิก่อนที่จะนำน้ำเชื้อไปทำการเก็บรักษาต่อไป (Saacke, 1982) ลักษณะของน้ำเชื้อที่ใช้ในการประเมินได้แก่

4.1 ปริมาตรน้ำเชื้อ

น้ำเชื้อสุกรมีปริมาตรมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น อายุ ขนาดอัณฑะ พันธุ์สุกรแต่ละตัว อาหาร ฤดูกาล อุณหภูมิ ความถี่ของการรีด และวิธีการรีดเก็บน้ำเชื้อ เป็นต้น (Hafez, 1974; Hunter, 1980) ปริมาตรน้ำเชื้อส่วนใหญ่ประกอบด้วยเซมินัลพลาสมาที่หลั่งมาจากต่อมร่วมต่างๆในระบบสืบพันธุ์เพศผู้ (Hafez, 1993) โดยปกติน้ำเชื้อสุกรมีปริมาตร 150-300 มิลลิลิตร (Hafez, 1993; Rozeboom, 2000)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อายุ สัตว์อายุน้อย มีขนาดอัณฑะเล็ก สามารถผลิตน้ำเชื้อได้ปริมาตรน้อยกว่าสัตว์ที่มีอายุมากกว่า และมีขนาดอัณฑะที่ขนาดใหญ่ (Hafez, 1974) สอดคล้องกับ Kennedy and Wilkins (1984) ที่รายงานว่าปริมาตรน้ำเชื้อเพิ่มขึ้นตามอายุของสุกร และ Greenberg and Mahone (1981) รายงานว่า ปริมาตรน้ำเชื้อส่วนข้นเพิ่มขึ้นตามอายุสุกรเช่นกัน

พันธุ์ สุกรในแต่ละพันธุ์สามารถให้น้ำเชื้อได้ในปริมาตรที่ต่างกัน โดย Swierstra (1973) รายงานว่า สุกรพันธุ์ Yorkshire มีปริมาตรน้ำเชื้อมากกว่าพันธุ์ Lacombe สอดคล้องกับ Kennedy and Wilkins (1984) ที่รายงานว่า น้ำเชื้อของสุกรพันธุ์ต่างๆ มีปริมาตรไม่เท่ากัน โดยสามารถเรียงลำดับจากปริมาตรมากไปหาปริมาตรน้อยได้ดังนี้ พันธุ์ Yorkshire, Landrace, Duroc, Hampshire และ Lacombe

ฤดูกาล ในแต่ละฤดูกาลสุกรสามารถผลิตน้ำเชื้อได้แตกต่างกัน โดย Kunavongkrit and Prateep (1995) รายงานว่า ในฤดูร้อนสุกรจะผลิตน้ำเชื้อได้ปริมาตรน้อยกว่าในฤดูฝน ($p<0.1$) และในฤดูหนาว สอดคล้องกับ Kennady and Wilkins (1984) ที่รายงานว่า ช่วงเดือนเมษายนสุกรผลิตน้ำเชื้อได้ปริมาตรต่ำที่สุดและสุกรสามารถผลิตน้ำเชื้อได้ปริมาตรเพิ่มขึ้นสูงสุดในเดือนพฤศจิกายน

ความถี่ ความถี่ในการรีดน้ำเชื้อเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลกระทบต่อปริมาตรน้ำเชื้อ โดย Swierstra and Dyck (1976) รายงานว่า สุกรที่รีดเก็บน้ำเชื้อทุกวัน ปริมาตรน้ำเชื้อที่รีดเก็บได้จะน้อยกว่าการรีดเก็บทุก 3 วัน (161 และ 195 มิลลิลิตร ตามลำดับ) ($p<0.01$) สอดคล้องกับ Swierstra (1973) ที่รายงานว่า การรีดน้ำเชื้อครั้งที่ 1 สุกรให้ปริมาตรน้ำเชื้อมากกว่าเมื่อรีดในครั้งที่ 2 และ 3

ความสกปรกและแบคทีเรีย ความสกปรกและแบคทีเรียที่อาจปะปนมากับน้ำเชื้อภายหลังจากรีดเก็บน้ำเชื้อ จะทำให้การมีชีวิตของตัวอสุจิสั้นลงและทำให้อสุจิตายได้ ภายหลังจากรีดต้องรีบปิดปากภาชนะที่รองเก็บน้ำเชื้อ (ศรีสุวรรณ, 2542)

นอกจากนี้วิธีการเลี้ยงดูก็มีผลต่อการผลิตน้ำเชื้อเช่นกัน โดย Trudeau and Sanford (1986) รายงานว่า สุกรเพศผู้ที่เลี้ยงแยกกับสุกรเพศเมีย ให้ปริมาตรน้ำเชื้อน้อยกว่าสุกรเพศผู้ที่เลี้ยงใกล้กับสุกรเพศมีย ในทำนองเดียวกับงานทดลองของ Hemsworth *et al*., (1981) ที่รายงานว่า สุกรเพศผู้ที่เลี้ยงแยกกับสุกรเพศเมียใช้เวลาหลั่งน้ำเชื้อสั้นกว่าสุกรเพศผู้ที่เลี้ยงใกล้สุกรเพศเมีย ($p<0.05$) และมีบางรายงานกล่าวว่าอุณหภูมิของสภาพแวดล้อมภายนอกและช่วงความยาวแสงในแต่ละวันไม่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

มีผลต่อปริมาตรน้ำเชื้อ (Wettermann *et al*., 1976; Wettermann *et al.*, 1979; Greenberg and Mahone, 1981)

4.2 สีของน้ำเชื้อ

สีของน้ำเชื้อสามารถบ่งบอกถึงความผิดปกติของน้ำเชื้อหรือพ่อพันธุ์ได้ (Buhr, 1994) และยังสามารถนำมาใช้ประเมินความเข้มข้นของน้ำเชื้ออย่างคร่าวๆ ได้ โดยสีของน้ำเชื้อแบ่งออกเป็น 3 ระดับ ได้แก่ ดี (good) พอใช้ (fair) และไม่ดี (poor) (Sorensen, 1979)

ดี หมายถึง น้ำเชื้อที่มีสีขาวนวลเหมือนครีม มีความเข้มข้นของอสุจิ

พอใช้ หมายถึง น้ำเชื้อที่มีสีขาวขุ่นเหมือนน้ำนม มีความเข้มข้นของอสุจิน้อยกว่าระดับดี

ไม่ดี หมายถึง น้ำเชื้อที่มีสีใส มีความเข้มข้นน้อย

โดยปกติน้ำเชื้อจะมีสีขาวขุ่นคล้ายนม แต่ถ้าน้ำเชื้อมีสีอื่น แสดงว่าน้ำเชื้ออาจมีการปนเปื้อนของสิ่งแปลกปลอมหรือสิ่งสกปรก หรืออาจเกิดจากความผิดปกติของพ่อพันธุ์เอง เช่น

สีเหลือง (yellewish) อาจมีส่วนของปัสสาวะปนออกมาด้วย น้ำปัสสาวะจะมีผลต่อการมีชีวิตของอสุจิ น้ำเชื้อที่พบมีสีเหลืองจึงนำไปใช้ผสมพันธุ์ไม่ได้

สีชมพู (pinkish) อาจมีส่วนของเซลล์เม็ดเลือดแดงปนออกมา เนื่องจากลึงค์ (Penis) เป็นแผลเพราะถูกดึงหรือขูดในระหว่างการรีดน้ำเชื้อ ถ้ามีปริมาณของเลือดปนน้อยอาจนำน้ำเชื้อไปใช้ประโยชน์ได้ แต่ถ้ามีมากควรทิ้งไป

สีเหลืองคล้ำ อาจเกิดจากเม็ดสี riboflavin ซึ่งปรากฏในสัตว์บางสายพันธุ์ สีที่เกิดขึ้นไม่มีผลต่ออัตราการมีชีวิตรอดของอสุจิ ลักษณะเช่นนี้อาจเกิดขึ้นได้ในบางฤดูกาล

นอกจากนี้ลักษณะของน้ำเชื้อบางอย่าง เช่น น้ำเชื้อมีกลิ่นเหม็น มีลักษณะเหนียวหนืดติดตามหลอดทดลอง มีเกล็ดตะกอน อาจเกิดเพราะมีหนองปนออกมาเนื่องจากพ่อพันธุ์เป็นโรค ควรจะนำสุกรไปรักษาหรือคัดทิ้งต่อไป (Serenson, 1979; Buhr, 1994; RoZeboom, 2000)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

น้ำเชื้อสุกรปกติมีค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ระหว่าง 7.2-7.8 (Hafez, 1993) ความผันแปรของค่าความเป็นกรด-ด่าง ขึ้นอยู่กับการใช้พลังงานจากน้ำตาลฟรักโตสของอสุจิ ในสภาวะขาดออกซิเจน น้ำตาลฟรักโทสจะถูกเปลี่ยนเป็นกรดแลคติค (lactic acid) ทำให้ค่าความเป็นกรด- ด่างของน้ำเชื้อลดลง น้ำเชื้อมีสภาพความเป็นกรดเพิ่มมากขึ้น แต่ในสภาวะที่มีออกซิเจนน้ำตาลฟรักโทสจะถูกเปลี่ยนไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และน้ำ นอกจากนี้ขณะรีดเก็บน้ำเชื้อถ้ามีน้ำปัสสาวะของพ่อพันธุ์ปะปนลงไป อาจทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเปลี่ยนแปลงได้ หากน้ำเชื้อมีสภาพความเป็นกรด-ด่างมากเกินไป มีผลให้อัตราเมแทบอลิซึมของอสุจิลดลง (Bearden and Fuquay, 1984) ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมมีความสำคัญต่อการทำงานของเอนไซม์ในอสุจิ และการมีชีวิตรอดของอสุจิ และทำให้เกิดขบวนการเมแทบอลิซึมสูงที่สุดมีค่าใกล้เคียงกับ 7.0 หรือมีสภาพเป็นกลาง (Sorenson, 1979; Bearden and Fuquay, 1984) ดังนั้นน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อที่ดีที่เหมาะสมกับน้ำเชื้อ การวัดค่าความเป็นกรด-ด่างสามารถวัดได้โดยใช้กระดาษลิตมัส (lithmus paper) หรือเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)

4.4 ลักษณะรูปร่างของอสุจิ (Morphology of spermatozoa)

รูปร่างลักษณะของอสุจิและความสมบูรณ์ของอะโครโซมมีผลต่อการประเมินอัตราการรอดชีวิตของอสุจิ และยังมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการปฏิสนธิ คุณสมบัติทั้ง 2 ประการดังกล่าวยังเป็นคุณลักษณะที่สำคัญในการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อนอกเหนือจากการหาค่าการเคลื่อนที่เพียงอย่างเดียว เพราะอสุจิที่เคลื่อนที่อาจจะมีลักษณะรูปร่างผิดปกติ ทำให้ความสามารถในการปฏิสนธิกับไข่ลดต่ำลง ในน้ำเชื้อที่มีอสุจิรูปร่างปกติมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ สามารนำไปใช้ประโยชน์ได้ (Rozeboom, 2000) เปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีส่วนหัวรูปร่างปกติน้อยมีความสัมพันธ์กับการลดการปฏิสนธิ (Hafez, 1993) ลักษณะรูปร่างของอสุจิศึกษาโดยการย้อมสีแล้วตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ (microscope) หรือใช้กล้องอิเล็กตรอน (electron microscopy) โดยสีที่ใช้ย้อม ได้แก่ สี eosin-nigrosin, basic fuchsin, eosin-fast green FCF Stain (Soresen, 1979; Laing *et al.,* 1988) Willian stain ใช้สำหรับประเมินลักษณะรูปร่างส่วนหัว ส่วนสี naphthol yellow และ erythrocin stain ใช้ สำหรับประเมินลักษณะของโครโมโซม (Rozeboom, 2000) เป็นต้น น้ำเชื้อที่มีความผิดปกติมากจะมีความสามารถในการผสมติดลดลง (Laing et al., 1988) ปกติในน้ำเชื้อที่หลั่งแต่ละครั้งมีทั้งอสุจิที่มีรูปร่างลักษณะปกติและผิดปกติ ขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์ การทำงานของอัณฑะ และการเปลี่ยนแปลงภายในท่อพักอสุจิ เป็นต้น (Liang *et al.*, 1988) Kunavongkrit and

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Prateep (1995) รายงานว่า ฤดูกาลที่ต่างกันไม่มีผลกระทบต่ออสุจิรูปร่างผิดปกติ แต่รายงานของ Wettemann *et al.* (1976) พบว่า ในสภาพแวดล้อมที่อุณหภูมิภายนอกสูงมีผลทำให้อสุจิรูปร่างปกติมีจำนวนลดลง และเปอร์เซ็นต์อสุจิรูปร่างผิดปกติเพิ่มมากขึ้น

4.4.1 อสุจิรูปร่างปกติ (Normal spermatozoa)

อสุจิรูปร่างปกติประกอบด้วย ส่วนหัวและส่วนหาง ส่วนหางแบ่งเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนมิดพีช (mid piece) เมนพีช (main piece) และเอนพีช (end piece) (Sorensen, 1979)

ส่วนหัว ยาวประมาณ 8 ไมครอน (micron) ประกอบด้วย นิวเคลียส (homogeneous nucleus) ส่วนบนถูกครอบคลุมโดยหมวก 3 ชั้น (three-layered cap) คือ loose, thin และ dense และส่วนท้ายจะครอบคลุมด้วยโพสนิวเคลียแคป (postnuclear cap) และอะโครโซม (acrosome) จะครอบคลุมส่วนบนของนิวเคลียสของตัวอสุจิ ภายในอะโครโซมประกอบไปด้วยเอนไซม์ที่จำเป็นสำหรับให้อสุจิสามารถเจาะเข้าไปในชั้นโคโรนาเรเดียตา (corona rediata) และชั้นโซน่าเพลลูซิดา (Zona pellucida) ของไข่ได้ในระหว่างการปฏิสนธิ

ส่วนหาง ยาวประมาณ 49 ไมครอน เป็นส่วนที่ใช้ในการเคลื่อนไหวหรือเคลื่อนที่ โดยประกอบด้วยเส้นใยขนาดใหญ่ 9 เส้น และเส้นใย 9 เส้นจะล้อมรอบเส้นใย 2 เส้นไว้ตรงกลาง ส่วนมิดพีชจะมีความหนามากกว่าส่วนหางบริเวณอื่นๆ ยาวประมาณ 11 ไมครอน ส่วนนี้จะมีไมโตคอนเดรียพันรอบ ไมโตคอนเดรียจะเปลี่ยนน้ำตาลฟรักโทสและสารอื่นที่ให้พลังงานไปเป็นส่วนประกอบที่ให้พลังงานสูงที่ตัวอสุจิสามารถนำไปใช้ได้ ส่วนเมนพีชและเอนพีชยาวประมาณ 38 ไมครอน ส่วนเอนพีชจะต่างจากหางส่วนอื่นคือ ไม่มีโปรเทคทีฟชีท (protective sheath) ส่วนหางทั้งหมดมี axial filament ทอดยาวจากด้านที่ส่วนหางติดกับส่วนหัวมาจนถึงปลายหางสุด ภายใน axial filament จะมีไฟบริล (fibrils) เล็ก ๆ อยู่ โดยการบีบรัดตัวของไฟบริลจะทำให้ส่วนหางของอสุจิเกิดการเคลื่อนไหวทำให้อสุจิเคลื่อนที่ได้

4.4.2 อสุจิรูปร่างผิดปกติ (Abnormal spermatozoa)

อสุจิรูปร่างผิดปกติแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด (Sorensen, 1979) ดังนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1. ความผิดปกติที่เกิดขึ้นในช่วงแรก (primary abnormalities) เป็นความผิดปกติที่เกิดที่อัณฑะ โดย การเกิดความผิดปกติในช่วงการเปลี่ยนแปลงรูปร่างอสุจิ (spermatogenic process) และเกิดความไม่เหมาะสมในการเปลี่ยนแปลงเมื่อผ่านมาที่ระบบท่อ (สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม)

- ความผิดปกติส่วนหัว ได้แก่

1. หัวมีลักษณะคล้ายลูกแพร (pyriform หรือ pear-shaped)
2. หัวมีลักษณะกลม (round)
3. หัวมีลักษณะยาวหรือผอม (elongated หรือ slender)
4. หัวมีขนาดเล็ก (microcephalic หรือ small)
5. หัวมีขนาดใหญ่ (macrocelphalic หรือ giant)
6. มีสองหัว (double หรือ twin)
7. อะโครโซมผิดปกติ (abnormal acrosome)

- ส่วนหมวกหาย (loss of apical ridge)
- มีปุ่ม (knobbed)
- เป็นขุย (ruffled)
- ไม่สมบูรณ์ (incomplete)
- เสื่อม (deteriorated)

- มิดพีชผิดปกติ ได้แก่

1. มีลักษณะงอ (bent หรือ kinked at right angle)
2. ส่วนมิดพีชมี 2 ส่วน (twin หรือ double)
3. คอบวม (enlarged หรือ swollen)
4. คอเอียง (off-center attachment หรือ abaxial)

- ส่วนหางผิดปกติ ได้แก่

1. หางม้วน (coiled หรือ curled)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. มีสองหาง (double tail)

2. ความผิดปกติที่เกิดขึ้นในช่วงที่สอง (secondary abnormalities) เป็นความผิดปกติที่เกิดในระบบท่อหลังจากอสุจิเคลื่อนออกมาจากท่อเซมินิเฟอรัสและอัณฑะแล้ว หรืออาจเกิดจากความผิดพลาดในการสเมียร์ ลักษณะที่ผิดปกติ ได้แก่

1. หัวขาด (detached heads)
2. มีจุดหยดน้ำที่ส่วนคอหรือหาง (protoplasmic droplet on neck or tail)
3. หางพับงอ (shoehook tail)
4. หมวกหลุด (loose cap from the head)

4.5 อสุจิมีชีวิต

จำนวนอสุจิที่มีชีวิตมีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องกับอัตราการผสมติด โดยค่าที่ได้จะนำไปคำนวณร่วมกับความเข้มข้นของน้ำเชื้อเพื่อเจือจางน้ำเชื้อ สัดส่วนของอสุจิที่มีชีวิตและอสุจิที่ตายในน้ำเชื้อที่รีดเก็บมาได้แต่ละครั้ง เป็นตัวบ่งชี้ถึงคุณภาพน้ำเชื้อ การประเมินอัตราการมีชีวิตของอสุจิสามารถประเมินได้โดยการย้อมสีเช่นเดียวกับการศึกษาลักษณะของรูปร่างของอสุจิ และตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400-1,000 เท่า โดยสี ที่นิยมใช้คือ สี eosin-nigrosin (Liang *et al.,* 1988) เซลล์อสุจิที่มีชีวิตจะไม่ติดสี ส่วนเซลล์อสุจิที่ตายจะติดสีแดงหรือสีชมพูของสี eosin เพราะผนังเซลล์ถูกทำลายหรือเสื่อมสภาพทำให้สีซึมผ่านได้ และมีสีของ nigrosin เป็นพื้น (Hafez, 1993) ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการมีชีวิตของตัวอสุจิ เช่น ฤดูกาลที่ต่างกันมีผลต่อจำนวนตัวอสุจิมีชีวิต โดยพบว่าในเดือนมกราคมน้ำเชื้อมีเปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตสูงที่สุดและลดลงต่ำสุดในเดือนสิงหาคม (Kennedy and Wilkins, 1984) และนอกจากนี้ยังพบว่าจำนวนอสุจิมีชีวิตเพิ่มขึ้นตามอายุสุกร ($P<0.05$) (Kennedy and Wilkins, 1984; Greenberg and Mahone, 1981)

4.6 ความเข้มข้นของน้ำเชื้อ

ความเข้มข้นของน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกรนั้นมีความแตกต่างกัน โดยจำนวนอสุจิต่อการหลั่งแต่ละครั้งขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง ได้แก่ อายุ ขนาดของอัณฑะ สุขภาพร่างกาย อาหาร ความถี่ในการรีดน้ำเชื้อ และวิธีในการรีดเก็บน้ำเชื้อ (Laing *et al.,* 1988) Swiersta and Dyck (1976) รายงานว่า การรีดน้ำเชื้อสุกรทุกวัน น้ำเชื้อจะมีความเข้มข้นน้อยกว่าการรีดทุก 3 วัน (99 และ 221 ($\times 10^6$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตัวต่อมิลลิลิตร) ($P<0.01$) และยังพบว่าจำนวนอสุจิยังน้อยกว่าด้วย โดยมีค่าเท่ากับ 11.2×10^6 และ 32.1×10^6 ตัว ตามลำดับ ($P<0.01$) ในฤดูร้อนน้ำเชื้อสุกรจะมีความเข้มข้นน้อยกว่าในฤดูฝนและฤดูหนาว ($P<0.001$) โดยความเข้มข้นมีค่าเท่ากับ 174.4, 266.8 และ 241.4×10^6 ตัวต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ การคำนวณหาความเข้มข้นของอสุจิในน้ำเชื้อคิดเป็นจำนวนอสุจิต่อมิลลิลิตร การหาความเข้มข้นของอสุจิในน้ำเชื้อมีความจำเป็นต่อการนำไปคำนวณเพื่อเจือจางน้ำเชื้อ สำหรับคิดเป็นจำนวนปริมาตรของน้ำเชื้อ (dose) ต่อการหลั่งแต่ละครั้ง (Rozeboom, 2000) ปริมาตรของน้ำเชื้อกับความเข้มข้นของเซลล์อสุจิ มีความสัมพันธ์กันในทางตรงข้าม กล่าวคือ ถ้าน้ำเชื้อมีปริมาตรมาก ความเข้มข้นของเซลล์อสุจิต่อมิลลิลิตรจะต่ำ แต่ถ้าปริมาตรน้อย ความเข้มข้นของเซลล์อสุจิต่อมิลลิลิตรจะสูง (ศรีสุวรรณ. 2542 และ McIntosh, 1998) น้ำเชื้อที่มีความเข้มข้นต่ำจะสามารถเจือจางได้น้อย (Buhr, 1994) โดยทั่วไปน้ำเชื้อสุกรมีความเข้มข้นประมาณ 200-300 ล้านตัวต่อมิลลิลิตร (Hafez, 1974) McIntosh (1998) รายงานว่า ความเข้มข้นของน้ำเชื้อจะเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 100-500 ล้านตัวต่อมิลลิลิตร โดยอสุจิรูปร่างปกติมีประมาณ 60-80 ล้านตัวต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ยังพบว่า ฤดูกาลก็มีผลต่อการผลิตตัวอสุจิเช่นกัน โดยพบว่าสุกรสามารถผลิตอสุจิได้สูงสุดในฤดูหนาวและผลิตได้ต่ำสุดในฤดูใบไม้ผลิและฤดูร้อน (Trudeau and Sanford, 1986)

5. อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระเป็นอะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวอย่างน้อย 1 ตัวอยู่ในออร์บิทัลวงนอกสุดที่มีระดับพลังงานสูง อนุมูลอิสระเกิดขึ้นได้เมื่อพันธะระหว่างอะตอมแตกออกและมีอิเล็กตรอนเดี่ยวคงเหลือ อิเล็กตรอน เดี่ยวนี้ทำให้อนุมูลอิสระมีความเสถียรต่ำและพยายามจับคู่กับอิเล็กตรอนเดี่ยวอื่น ดังนั้นอนุมูลอิสระจึงมีคุณสมบัติเฉพาะ คือ มีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยาสูงจึงทำปฏิกิริยากับโมเลกุลที่อยู่รอบๆ โดยดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลข้างเคียงเพื่อให้ตัวมันเสถียร โมเลกุลข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ที่ไม่เสถียร และเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นต่อไป ซึ่งลิพิด โปรตีนและดีเอ็นเอ เป็นสารชีวโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนหรืออะตอมไฮโดรเจนที่หลุดออกโดยง่าย ทำให้อนุมูลอิสระเข้าไปทำปฏิกิริยาโดยเข้าไปจับคู่กับอิเล็กตรอนของชีวโมเลกุล ทำให้คุณสมบัติและการทำงานของชีวโมเลกุลเปลี่ยนไป (โอภา, 2550)

อนุมูลอิสระที่มีความสำคัญและมีผู้ศึกษากันมาก คือ อนุมูลอิสระกลุ่มออกซิเจน ได้แก่ ซูเปอร์ออกไซด์ แอนอิออน ($O_2^{\cdot-}$) และอนุมูลไฮดรอกซี ($^{\cdot}OH$) เนื่องจากอนุมูลอิสระเข้าไปเกี่ยวข้องกับการเร่งการสลายของเซลล์ต่าง ๆ ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระจะเกิดขึ้นตลอดเวลาในร่างกายและขณะเดียวกันร่างกายก็ควบคุมระดับของอนุมูลอิสระโดยอาศัยสารประกอบต่าง ๆ ที่ทำหน้าที่หยุด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ สารเหล่านั้นเรียกว่า แอนติออกซิแดนซ์ ได้แก่ เอนไซม์ ซึ่งมีฤทธิ์เป็นแอนติออกซิแดนซ์เอนไซม์ ตัวอย่างเช่น ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (superoxide dismutase) แคทตาเลส เปอร์ออกซิเดส (catalase peroxidase) และ กลูตาไธโอน เปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) (ปราณี, 2547)

5.1 สารต้านอนุมูลอิสระ

เซลล์ประกอบไปด้วยเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ และโมเลกุลต้านอนุมูลอิสระ (Ames *et al*., 1995: Yu, 1994) ซึ่งประกอบด้วย

5.1.1 เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส ซึ่งเร่งปฏิกิริยา dismutation ของ $O_2^{\cdot -}$ ไปเป็น H_2O_2 และ เอนไซม์แคทตาเลส เปอร์ออกซิเดส และกลูตาไธโอน เปอร์ออกซิเดส ซึ่งเปลี่ยน H_2O_2 ไปเป็น น้ำ

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

ภาพที่ 3 ปฏิกิริยาการเปลี่ยนซูเปอร์ออกไซด์ แอนไอออนโดยเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส
ที่มา: วิชัย (2545)

5.1.2 แคทตาเลส (catalase)

เป็นเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ ที่มีโครงสร้างเป็น homotetrameric protein (MWt., 240 kDa) (Fridovich and Freeman, 1986) ทำหน้าที่เปลี่ยน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไปเป็นน้ำ และออกซิเจน

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{CAT}} 2H_2O + O_2$$

ภาพที่ 4 ปฏิกิริยาการเปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยเอนไซม์แคทตาเลส
ที่มา: Fridovich and Freeman (1986)

5.1.3 กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (Glutathione peroxidase, GPx)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส อยู่ในตระกูลของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระที่มีซีลีเนียม เป็นองค์ประกอบ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่อยู่ภายในเซลล์ และนอกเซลล์ โดยทั่วไปกลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส มีโครงสร้างเป็น tetrameric protein (MWt, 85 kDa) ต้องการซีลีเนียม 4 โมเลกุล จับตัวกันเป็น seleno-cysteine ซึ่งเป็นบริเวณที่เร่งปฏิกิริยา กลูตาไธโอนเปอร์-ออกซิเดส จะรีดิวซ์ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไปเป็น น้ำ ดังภาพที่ 5 ปฏิกิริยารีดักชั่นของออกซิไดซ์ไดซัลไฟด์ กลูตาไธโอน (GSSG) จะถูกเร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์กลูตาไธโอนรีดักเทสตามวิถีกลูตา-ไธโอน วิถีกลูตาไธโอนจะเกิดขึ้นเพื่อเป็นกลไกการป้องกันของเซลล์และการป้องกันการสูญเสียของหมู่ไทออลภายในเซลล์ (Heffner anf Repine, 1989)

$$H_2O_2 + 2(GSH) \xrightarrow{\text{GSH-Px (Enzyme)}} GSSG + 2H_2O$$

ภาพที่ 5 ปฏิกิริยาการเปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส
ที่มา: ปราณี (2547)

5.2 การเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชั่นในเยื่อหุ้มเซลล์

ในกรณีที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกาย อนุมูลอิสระจะเข้าทำลายกรดไขมันสายยาวชนิดที่ไม่อิ่มตัวของเยื่อหุ้มเซลล์ เกิดเป็นอนุมูลอิสระไขมันเปอร์-ออกซี่ (lipid peroxy radical) จากนั้นอนุมูลอิสระไขมันเปอร์ออกซี่ จะเข้าไปทำลายโครงสร้างและการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ที่เป็นโปรตีนและส่วนอื่นให้เปลี่ยนแปลง ซึ่งผลจากการเกิดลิปิดเปอร์-ออกซิเดชั่นสามารถทำให้โครงสร้างและการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ที่เป็นโปรตีนเปลี่ยนแปลงได้ ทำให้สูญเสียการควบคุมแคลเซียมไอออน (calcium ion) ภายในเซลล์จากการทำงานของเอนไซม์แคลเซียมไอออนเอทีพีเอส (calcium ion ATPase) ซึ่งนำไปสู่การตายของเซลล์ อนุมูลอิสระและไขมันเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นภายในเซลล์สามารถออกซิไดซ์โปรตีนและดีเอนเอภายในเซลล์ ขณะที่การปล่อยอนุมูลอิสระสู่ภายนอกเซลล์สามารถทำความเสียหายให้กับเซลล์ข้างเคียงได้ (Bottje *et al*., 1995)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อนุมูลอิสระ (Free radicals) เป็นสารที่ไม่เสถียรทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ว่องไว ดังนั้นสามารถทำปฏิกิริยากับโมเลกุลต่างๆในร่างกาย เช่น ไขมัน โปรตีน หรือ สารพันธุกรรม ภาวะที่อนุมูลอิสระมากเกินไปจะก่ออันตรายแก่ร่างกาย เรียกภาวะนี้ว่า oxidative stress (Papus,1998)

ผลของอนุมูลอิสระต่อคุณภาพน้ำเชื้อ

ในสภาวะ oxidative stress จะเกิดอนุมูลอิสระขึ้น ทำให้ตัวอสุจิเกิดความเสียหายได้ โดยอนุมูลอิสระจะไปทำลาย plasma membrane ของตัวอสุจิซึ่งส่วนใหญ่ประกอบไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัว (polyunsaturated fatty acid หรือ PUFA) ที่มีพันธะคู่ระหว่างคาร์บอน ซึ่งสามารถถูกออกซิไดส์ได้โดยง่าย ทำให้เกิดการสูญเสียอิเล็กตรอนให้กับอนุมูลอิสระ เช่น hydroxyl radical ($OH^{\cdot}$) superoxide radical ($O_2^{\cdot}$) เป็นต้น โมเลกุลที่สูญเสียอิเล็กตรอนนี้ก็จะมีการแย่งจับอิเล็กตรอนของโมเลกุลอื่นต่อไปเรื่อยๆ เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ขึ้น ทำให้เซลล์อสุจิเกิดการเสียสภาพ มีผลทำให้การมีชีวิตของตัวอสุจิลดลง

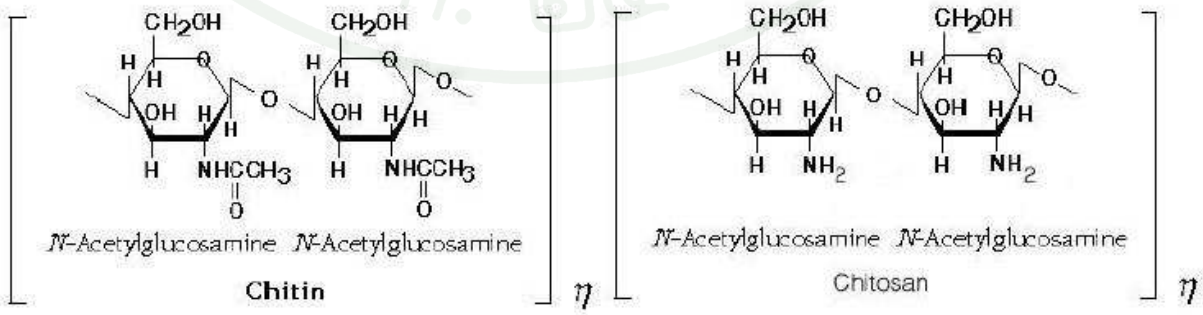
นอกจากนี้อนุมูลอิสระยังทำให้เกิดการตายของตัวอสุจิ (apoptosis) โดยเมื่ออนุมูลอิสระทำลายเมมเบรนชั้นนอกและชั้นในของไมโตคอนเดรียได้แล้วจะทำให้เกิดการหลั่งของ cytochrome-C protein ออกมา ซึ่งกระตุ้นให้เอนไซม์ caspases-8 และ 9 ทำงาน โดยเอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้จะไปกระตุ้นให้มีการหลั่งของเอนไซม์ caspases3, 6 และ 7 ทำงานด้วย ส่งผลให้เซลล์อสุจิเกิดการเสื่อมสลายขึ้น โดยทำให้ไซโตพลาสซึม และเมมเบรนต่างๆ เกิดการเปลี่ยนแปลง และกระตุ้นให้เอนไซม์ endonuclease ทำงาน ส่งผลให้สาย DNA แตกหักเสียหาย (Agarwal *et al*., 2002) ความสามารถในการเคลื่อนไหวของตัวของตัวอสุจิก็จะลดลงและทำให้ผนังเซลล์อสุจิซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัว (polyunsaturated fatty acid หรือ PUFA) เกิดความเสียหายได้ (Heidar et al., 2005)

6. ไคติน-ไคโตซาน(Chitosan)

ไคติน-ไคโตซานเป็นสารโคโพลิเมอร์ธรรมชาติระหว่างสองโมโนเมอร์ของ anhydro-N-acetyl-D-glucosamine และ anhydro-D-glucosamine ถ้าสัดส่วนที่อยู่ร่วมกันของโมโนเมอร์แรกมากกว่า จะแสดงลักษณะสมบัติเด่นของไคติน แต่ถ้าสัดส่วนที่อยู่ร่วมกันของโมโนเมอร์ที่สองมากกว่าจะแสดงสมบัติเด่นของไคโตซาน ซึ่งลักษณะโคโพลิเมอร์นี้จะมีผลต่อเนื่องไปยังสมบัติการละลายของไคติน-ไคโตซาน จัดอยู่ในกลุ่มของคาร์โบไฮเดรตผสมที่ประกอบด้วยอนุพันธ์ของน้ำตาลกลูโคสที่มีธาตุไนโตรเจน (ในรูปของหมู่อะซิโตมิโด $-NHCOCH_3$) เกาะอยู่ภายในโมเลกุลที่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตำแหน่งคาร์บอนตัวที่ 2 ทำให้มีสมบัติเฉพาะตัวในการเกิดปฏิกิริยากับสารอื่นๆ หลายชนิด ไคตินมีสูตรทางเคมีของโมโนเมอร์คือ $C_8H_{13}NO_5$ ประกอบด้วย C 47.29% H 6.45% N 6.89% และ O 39.37% พบได้ในเปลือกของสัตว์ เช่น กุ้ง ปู หมึก แมลง ตัวไหม หอยมุก และผนังเซลล์ของพวกรา ยีสต์ และจุลินทรีย์อีกหลายชนิด ไคตินในธรรมชาติเป็นของแข็งอันยรูปสีขาวครีม มีกลิ่นอ่อนๆ เฉพาะตัว มีลักษณะเป็นฝอยเส้นใยเมื่อส่องจากกล้องจุลทรรศน์ ไม่มีรสชาติ ทนความร้อนได้ถึง 170 องศาเซลเซียสโดยไม่เสื่อมคุณภาพ ในทางปฏิบัติไคตินละลายได้ในกรดอนินทรีย์ เช่น กรดเกลือ กรดกำมะถัน และกรดฟอสฟอริก กรดฟอร์มิกที่ปราศจากน้ำ แต่ไม่ละลายในน้ำด่างเจือจาง แอลกอฮอลล์ และตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ จึงนิยมใช้ไคตินในรูปของแข็งโดยตรง ส่วนไคโตซานเกิดจากปฏิกิริยาการกำจัดหมู่อะซิติล (Deacetylation) ของไคตินด้วยด่างเข้มข้น ทำให้โครงสร้างของไคตินบางส่วนเปลี่ยนแปลงไปโดยเฉพาะหมู่ฟังก์ชั่นที่มีธาตุไนโตรเจน (ในรูปของหมู่อะซิตามิโด $–NHCOCH_3$ เปลี่ยนไปเป็นรูปของหมู่เอมีน $–NH_2$) ที่ตำแหน่งคาร์บอนตัวที่ 2 สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของไคโตซานเป็นโพลิเมอร์สายยาวที่มีประจุบวกเนื่องจากมีหมู่เอมีน (ในรูป NH_3^+) ปกติไคโตซานละลายได้ในกรดอินทรีย์ เช่น กรดอะซิติก กรดโพรพานิก กรดแลคติค เป็นต้น pK_a ของไคโตซาน ขึ้นอยู่กับความหนาแน่นประจุของโพลิเมอร์ ขอบเขตของความสะเทินของประจุและค่าระดับการกำจัดหมู่อะซิติล (%DD) ที่มีเศษส่วนโมลเดียวกันกับคู่กรดที่ถูกสะเทิน pK_a ของไคโตซานมีค่าอยู่ในช่วง 6.2 ถึง 6.8 สารละลายของไคโตซานเป็นของเหลวใส มีความข้นหนืดสูง คล้ายน้ำผึ้ง มีพฤติกรรมแบบนอน นิวโตเนียน (non-newtonian) สามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นเยื่อบางได้ตามธรรมชาติ มีลักษณะของพลาสติกใสและยืดหยุ่นได้ ดังนั้นไคโตซานสามารถขึ้นรูปได้หลายแบบ เช่น แผ่นเยื่อบาง เจล เม็ด เส้นใย คอลลอยด์ และสารเคลือบในกิจกรรมทางชีวภาพ ไม่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต และย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ จึงมีความปลอดภัยในการเอาไคติน-ไคโตซานมาประยุกต์ใช้งานด้านต่างๆ เช่น การเกษตร อาหาร การจัดการ คุณภาพน้ำ การทอ การแยกสาร การแพทย์ ยา และเครื่องสำอาง ฯลฯ (ปิยะบุตร, 2543)



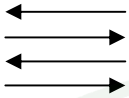
ภาพที่ 6 โครงสร้างของ ไคติน-ไคโตซาน

ที่มา: บุญล้อม (2546)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การจัดการเรียงตัวของสายไคโตซาน

มีการจัดแบ่งตามการเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุล แบ่งออกเป็น 3 ชั้น

1. α – form 

- คือ มีการเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลในลักษณะสวนทางกัน (anti – parallel chain alignment) มีความแข็งแรงสูง ได้แก่ ไคตินจากเปลือกกุ้ง กระดองปู

2. β - form

- คือ มีการเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลในลักษณะทางเดียวกัน (parallel chain alignment) การจับกันจึงไม่ค่อยแข็งแรง มีความไวต่อปฏิกิริยาเคมีมากกว่าแบบอัลฟา ได้แก่ ไคตินจากแกนปลาหมึก

3. γ - form

- คือ มีการเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลในลักษณะที่ไม่แน่นอน (สวนทางกันสลับทิศทางเดียวกัน) มีความแข็งแรงรองจากแบบอัลฟา ได้แก่ ไคตินจากเห็ด รา และพืชชั้นต่ำ

ไคตินในธรรมชาติอยู่รวมกับโปรตีนและเกลือแร่ ต้องนำมากำจัดเกลือแร่ออก (demineralization) โดยใช้กรดจะได้แผ่นเหนียวหนืดคล้ายพลาสติก แล้วนำไปกำจัดโปรตีนออก (deproteinization) โดยใช้ด่างจะได้ไคติน หากเป็นไคตินที่ได้จากเปลือกกุ้งหรือปู จะมีสีส้มปนอยู่ นำไปแช่ในเอทานอลเพื่อละลายสีออก

รูปแบบของไคโตซาน ที่ผลิตขึ้นมาจำหน่ายในขณะนี้มี 4 รูปแบบ ได้แก่

1. ไคโตซานที่เป็นเกล็ดหรือแผ่นบางเล็กๆ (flake)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. ไคโตซานที่เป็นผงละเอียดคล้ายแป้ง (micromilled powder)

3. ไคโตซานในรูปแบบสารละลายเป็นของเหลวหนืด (solutions) ซึ่งความเข้มข้นอาจจะแตกต่างกันไปตาม ความต้องการของผู้สั่งซื้อ

4. ไคโตซานที่อยู่ในรูปเม็ดเล็กขนาดประมาณ 300-500 ไมโครเมตร ผลิตภัณฑ์ไคโตซานที่อยู่ในรูป flake, powder, bead นั้นหากเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพสูงจะต้องมีความชื้นต่ำมากคือไม่เกิน 5-10 เปอร์เซ็นต์ หากความชื้นสูงกว่านี้ก็อาจจะทำให้เกิดเชื้อราหรือมีสิ่งปนเปื้อนอื่นๆเข้าไปปะปนอยู่ทำให้คุณภาพด้อยลง หรืออาจจะเกิดความเป็นพิษ เนื่องจากเชื้อรา เชื้อแบคทีเรียหรือสิ่งปนเปื้อนนั้นๆผลิตสารพิษออกมา ความเป็นไปได้ที่จะเกิดการปนเปื้อนของสิ่งไม่พึงประสงค์ในไคโตซานนั้น เนื่องจากวัตถุดิบที่นำมาสกัดนั่นเอง

การใช้ไคติน – ไคโตซานเป็นสารเร่งการเจริญเติบโตในสุกร

สุกร เป็นสัตว์เศรษฐกิจที่สำคัญเนื่องจากเนื้อสุกรเป็นที่นิยมบริโภคโดยทั่วไป และให้ผลตอบแทนสูงกับผู้ผลิต ดังนั้นการเลี้ยงสุกรเชิงธุรกิจ จึงจำเป็นต้องอาศัยหลักวิชาการที่ถูกต้อง ระบบการจัดการฟาร์มที่ดีและเทคโนโลยีการผลิตที่เหมาะสม อาหารเป็นปัจจัยพื้นฐานที่สำคัญที่มีผลต่อการเลี้ยงสุกรให้ประสบผลสำเร็จ เพราะเป็นต้นทุนส่วนใหญ่ในการเลี้ยงสุกรทั้งหมด ปัจจุบันมีการใช้อาหารสำเร็จรูป ทั้งชนิดผงและชนิดเม็ด เนื่องจากมีความสะดวกและง่ายต่อการจัดการ หรือการใช้หัวอาหารนำ ไปผสมตามอัตราส่วนที่เหมาะสม ช่วยให้สุกรได้รับสารอาหารในปริมาณที่เพียงพอสำหรับการเจริญเติบโตและการสร้างผลผลิต ซึ่งในอาหารสำเร็จรูปจะมีปริมาณสารอาหารในระดับที่เหมาะสมให้เลือก รวมทั้งสารผสมล่วงหน้า (Premix) ที่เป็นวิตามิน แร่ธาตุ สารเร่งการเจริญเติบโต ยาปฏิชีวนะและสารเสริมพิเศษอื่น ๆ ที่จะทำให้สุกรมีการเจริญเติบโตที่ดี ปริมาณเนื้อแดงเพิ่มขึ้น อัตราการเกิดโรคและการตายลดต่ำลง ซึ่งจะช่วยให้เกษตรกรได้รับผลผลิตสูงสุด สารเร่งการเจริญเติบโต (Growth Promoter) เป็นกลุ่มที่มีการใช้อย่างแพร่หลายในการเลี้ยงสุกร เช่น สารเสริมปฏิชีวนะ เอนไซม์ กรดอินทรีย์ สมุนไพร และยาปฏิชีวนะ ฯลฯ

ไคติน-ไคโตซาน จัดเป็นสารโคพอลิเมอร์ธรรมชาติ กลุ่มคาร์โบไฮเดรทที่ประกอบด้วยอนุพันธุ์ของน้ำตาลกลูโคสที่มีธาตุไนโตรเจนในรูปของหมู่อะซีโตมิโด(-NHCOCH3) เกาะอยู่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ทำให้มีคุณสมบัติเฉพาะตัวในการทำ ปฏิกิริยากับสารอื่นๆ หลายชนิด โดยปกติไคโตซานจะละลายได้ดีในกรดอินทรีย์ มีคุณสมบัติเป็นโพลิเมอร์ประจุบวก มีความเหนียว ใส

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารละลายไคโตซานสามารถขึ้นรูปได้หลายแบบ ไม่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตและย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ (Biodegradable) ในด้านผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์ ไคโตซานเป็นสารเส้นใยที่ไม่ถูกดูดซึมและไม่ย่อยสลายในระบบทางเดินอาหาร แต่มีคุณสมบัติในการดูดซับไขมัน และจับตัวกับโลหะหนักรวมทั้งสารพิษอื่นๆ ที่ปนเปื้อนมากับอาหารและยา เสมือนเป็นตัวช่วยในการล้างสารพิษตกค้าง (Detoxification) ลดการสะสมพลังงานส่วนเกินและช่วยให้ระบบหมุนเวียนเลือดและหัวใจดีขึ้น มีฤทธิ์ต้านเชื้อราและเชื้อโรคบางชนิด เสริมสร้างระบบลำไส้และระบบขับถ่าย โดยไคโตซานซึ่งเป็นประจุบวกจะละลายในกระเพาะอาหารแล้วแปรสภาพเป็นเจลหุ้มไขมันที่เป็นประจุลบป้องกันการดูดซึมไขมันไปสะสม จากนั้นไขมันที่ดูดซับไว้จะถูกขับถ่ายออกจากร่างกาย

การนำไคโตซานมาใช้ในการเลี้ยงสุกร เป็นทางเลือกหนึ่งที่ช่วยเสริมสร้างการเจริญเติบโตของสุกรและเร่งการสร้างเนื้อแดง รวมทั้งควบคุมปริมาณไขมันสะสมได้ เนื่องจากในกระเพาะอาหารของสุกรมีสภาพเป็นกรด (pH ~ 2-3) เหมาะกับการทำงานของไคโตซาน ในการปรับสภาพความเป็นกรด-ด่าง ช่วยให้การย่อยโปรตีนเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ จากการทดลองใช้ไคโตซานเป็นสารเร่งการเจริญเติบโตในสุกรขุน โดยการเติมไคโตซานลงในอาหารด้วยอัตราส่วน 1.5 - 2 กิโลกรัมต่ออาหาร 1 ตัน และมีการเสริมยาปฏิชีวนะ Amoxycillin (AMOXY) และChlortetracycline 15% (CTC15%) โดยลดลงเหลือปริมาณครึ่งหนึ่งของอัตราปกติที่เคยให้ คือ AMOXYจาก 300 ppm เป็น 100 ppm และ CTC15% จาก 2 กิโลกรัมต่ออาหาร 1 ตัน เหลือ 1 กิโลกรัม ต่ออาหาร 1 ตัน ให้ผลการทดลองดังตารางที่ 3

ผลการเสริมไคโตซานในอาหารที่ใช้เลี้ยงสุกร พบว่าสามารถช่วยให้ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีขึ้น สภาพซากมีมันลดลง ทั้งมันในช่องท้องและมันสันหลังบางลง วัดค่าได้ความหนาเฉลี่ย 1.5 เซนติเมตร

หลังการเสริมไคโตซานในอาหารให้สุกรประมาณ 7-10 วัน สามารถสังเกตเห็นได้ว่าสุกรมีสุขภาพดี ผิวหนังสดใส ขนเป็นมันเงา ดูสุขภาพดี ระบบขับถ่ายเป็นปกติ อัตราการเจริญเติบโตสม่ำเสมอ เมื่อมีอาการเจ็บป่วย ติดเชื้อ พบว่าสามารถฟื้นตัวจากอาการป่วยได้เร็วกว่าสุกรที่ไม่ได้รับไคโตซานเลย รวมทั้งสามารถเจริญเติบโตได้ทันกับตัวอื่น ๆ

การใช้ไคโตซานในสุกรที่ระดับ 1.5 กิโลกรัมต่ออาหาร 1 ตัน สามารถลดการใช้ยาปฏิชีวนะลงได้พอสมควร และการใช้ที่ระดับ 2 กิโลกรัมต่ออาหาร 1 ตัน ยิ่งสามารถลดปริมาณยาปฏิชีวนะลงได้มาก แสดงให้เห็นว่าไคโตซานเป็นสารเร่งการเจริญเติบโต ที่ช่วยให้สุกรโตเร็ว ไม่ต้องใช้ยา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปฏิชีวนะในระดับสูง จึงทำให้สุกรมีโอกาสปลอดสารพิษได้มาก ในทางตรงกันข้ามกลับทำให้สุกรมีสุขภาพดีและแข็งแรง

ตารางที่ 3 แสดงการเปรียบเทียบผลของการได้รับไคโตซานเป็นสารเร่งการเจริญเติบโตในสุกร

กลุ่มทดลอง	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3	กลุ่มที่ 4	กลุ่มที่ 5	กลุ่มที่ 6	กลุ่มที่ 7	กลุ่มที่ 8
ใช้ไคโตซาน (กก./ตัน)	0	2	0	1.5	0	2	1.5	2
ใช้ Amoxycillin (ppm.)	300	200	300	200	100	300	200	100
ใช้ Chlortetracycline 15% (กก/ตัน)	2	1.5	2	1.5	1	2	1.5	1
น้ำหนักเริ่มต้น (ก.ก.)	2,223	2,128	1,962	1,812	2,029	820	794	1,109
น้ำหนักสิ้นสุด (ก.ก.)	2,807	2,695	2,844	2,603	2,974	1,456	1,460	1,837
จำนวนตัว (ตัว)	30	27	34	29	29	29	30	34
น้ำหนักอาหารรวม (ก.ก.)	1,750	1,555	1,940	1,721	1,749	1,425	1,465	1,450
น้ำหนักอาหารต่อตัว (ก.ก./ตัว)	58.33	57.59	57.06	59.34	60.31	49.14	48.83	42.65
น้ำหนักเพิ่ม (ก.ก./ตัว/วัน)	0.63	0.68	0.84	0.88	1.05	0.71	0.72	0.69
น้ำหนักอาหาร (ก.ก./ตัว/วัน)	1.88	1.86	1.84	1.91	1.95	1.59	1.58	1.38
FCR	2.98	2.74	2.19	2.17	1.86	2.24	2.19	2.00
Back Fat (ซ.ม.)	3	1.5	3	1.5	1.5	3	1.5	1.5

ที่มา: ปิยะบุตร, 2543

การเสริมไคโตซานเป็นสารเร่งการเจริญเติบโตของสุกร สามารถปรับปรุงประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อให้ดีขึ้น คุณภาพซากดีขึ้น สุกรโตเร็วได้น้ำหนักดี ทำให้ลดต้นทุนค่าอาหาร และปริมาณการใช้ยาปฏิชีวนะลงได้มาก ผู้เลี้ยงได้รับผลตอบแทนคุ้มค่า โดยไม่ต้องเสี่ยงกับสารพิษตกค้าง ที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค (ปิยะบุตร, 2543)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ไคโตซานป้องกันโรคทางเดินอาหาร

ไคโตซาน ช่วยในการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย โดยจะช่วยเสริมสร้างคุณภาพ ต่อต้านมะเร็ง ช่วยกำจัดและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้ออีโคไล ที่ปนเปื้อนในอาหารและน้ำ อันเป็นสาเหตุของโรคท้องร่วง อีกทั้งช่วยกำจัดสารพิษโลหะหนักที่ปนเปื้อนอยู่ในอาหาร มะเร็งลำไส้ และอาหารเป็นพิษ นอกจากนี้ไคโตซาน ยังช่วยเสริมสร้างวิตามินบีให้กับร่างกาย (Akira, 1988)

ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Chitooligosaccharide)

เรียกย่อว่า C.O.S. สารเสริมการเจริญเติบโตสำหรับสัตว์ (Animal Supplementary) โดยการสกัดสารไคโตซานให้เล็กลงในระดับนาโน โดยผ่านกระบวนการผลิตถึง 3 เทคโนโลยีอันประกอบด้วย

ไคโตเทคโนโลยี (Chito technology)
นาโนเทคโนโลยี (Nano technology)
ไบโอเทคโนโลยี (Bio technology)

โดยเป็นเอ็นไซม์จากธรรมชาติ จึงทำให้มีความบริสุทธิ์มากกว่าและมีขนาดที่เล็กกว่าไคโตซานทั่วไป 1000 เท่า สัตว์จึงสามารถดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดได้เร็วและนำไปใช้ประโยชน์ได้ทันที โดยมีศูนย์วัสดุชีวภาพไคติน-ไคโตซาน ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้ให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะในการผลิต และได้ทำการค้นคว้าวิจัยร่วมกับสำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ (NIA) กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ เป็นสารสกัดจากธรรมชาติ 100% ไม่มีสารพิษเจือปน นำมาใช้ในการสร้างเนื้อเยื่อ และโครงสร้างร่างกาย ช่วยเพิ่มการดูดซึมสารอาหาร และขับสารพิษออกจากร่างกายสัตว์เลี้ยง ทำให้สัตว์เลี้ยงมีระบบการขับถ่ายที่ดี ส่งผลให้สัตว์เลี้ยงโตเร็ว แข็งแรง มีความต้านทานโรคสูง ไม่มีสารพิษเจือปน เหมาะสำหรับสัตว์น้ำ และสัตว์บกทุกชนิด

และยังมีผลต่อกลไกการต้านการเกิดเนื้องอก (Jeon and Kim, 2002; Suzuki *et al*., 1986) กลไกการต้านจุลชีพ (Hadwiger and Beckman, 1980; Jeon *et al*., 2001; Kim *et al.,* 2000; Uchid

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

et al., 1989) และยังมีผลในการเพิ่มระดับของภูมิคุ้มกันอีกด้วย (Jeon & Kim, 2001; Suzuki *et al.,* 1992).

ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์กับการต้านอนุมูลอิสระ

ยังมีข้อมูลน้อยมากเกี่ยวกับกลไกที่เกี่ยวข้องกับการต้านอนุมูลอิสระของไคโตซาน แต่ Xie *et al* (2010) เชื่อว่า อนุมูลอิสระสามารถทำปฏิกิริยากับหมู่เอมีน $–NH_2$ ของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์แล้วฟอร์มตัวเป็น stable macromolecule radical และหมู่เอมีน $–NH_2$ สามารถเปลี่ยนรูปเป็นแอมโมเนียม NH_3^+ โดยการดูดซับ ไฮโดรเจนอิออนจากสารละลาย

ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกร

สำหรับข้อมูลเกี่ยวกับการศึกษาการใช้ไคโตซานเพื่อศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อพ่อพันธุ์สุกรนั้นยังไม่พบข้อมูลที่ทำการศึกษามาก่อน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. สัตว์ทดลอง

พ่อพันธุ์สุกร พันธุ์ดูรอค อายุเฉลี่ย 2 ปี จำนวน 15 ตัว โดยสุกรแต่ละตัวเลี้ยงในคอกขังเดี่ยว ขนาด 2.5 x 3 ตารางเมตร พื้นซีเมนต์ทึบในสภาพโรงเรือนระบบเปิดซึ่งมีอุปกรณ์ให้น้ำอัตโนมัติ

2. อาหารทดลอง

อาหารทดลองเป็นอาหารควบคุม โดยพ่อพันธุ์สุกรทุกกลุ่มได้รับอาหารสูตรสำหรับเลี้ยงพ่อพันธุ์สุกร โดยคำนวณให้มีค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ 2,934.08 กิโลแคลอรี่/กิโลกรัมและโปรตีนเท่ากับ 14.74 เปอร์เซ็นต์ (ส่วนประกอบของอาหารแสดงในตารางภาคผนวกที่ 1)

3. อุปกรณ์รีดเก็บน้ำเชื้อ

3.1 หุ่นล่อ (dummy)
3.2 ถุงพลาสติก
3.3 บีคเกอร์พลาสติกแบบมีหู (beaker)
3.4 ผ้ากรอส (gauze)
3.5 กระติกน้ำแข็ง
3.6 กระดาษชำระ
3.7 ยางวงรัดของ

4. อุปกรณ์ที่ใช้ควบคุมอุณหภูมิของน้ำเชื้อ

4.1 เทอร์โมมิเตอร์
4.2 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5. สารเคมีและอุปกรณ์ตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อ

5.1 กล้องจุลทรรศน์ ชนิด compound eye (Olympus B H-2)

5.2 เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยมสองตำแหน่ง

5.3 บีกเกอร์

5.4 แผ่นสไลด์

5.5 กระจกแผ่นบางปิดสไลด์ (coverglass)

5.6 Micropipette

5.7 เครื่องวัดความเข้มข้นของน้ำเชื้อ (SpermaCue® Photometer) ของบริษัท Minitub Abfüll- und Labortechnik GmbH & Co. KG ประเทศเยอรมัน

5.8 เครื่องวัดความเป็นกรด- ด่าง (pH Meter INDEX ID-1000)

5.9 เครื่องนับจำนวน (hand operated counter)

5.10 น้ำกลั่น

5.11 หลอดทดลอง (microcentrifuge tube) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

5.12 เครื่องตรวจคุณภาพน้ำเชื้อด้วยซอร์ฟแวร์ Weili Color Sperm Analysis System (WLJY-9000 Dynamic Software)

5.13 สีอีโอซิน (eosin) สีนิโกรซิน (nigrosin) โซเดียมซิเตรท (sodium citrate) สำหรับทำสีย้อมเพื่อตรวจดูตัวเป็นตัวตายและความผิดปกติของตัวอสุจิ โดยสีย้อมประกอบด้วย สีอีโอซิน 1 กรัม สีนิโกรซิน 5 กรัม โซเดียมซิเตรท 3 กรัม และน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร (ศรีสุวรรณ, 2542)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิธีการ

1. การจัดการสัตว์ทดลอง

พ่อสุกร พันธุ์ดูรอค อายุเฉลี่ย 2 ปีจำนวน 15 ตัว แบ่งพ่อสุกรดังกล่าวออกเป็น 3 กลุ่มๆละ 5 ตัว โดยพ่อพันธุ์สุกรแต่ละกลุ่มสุ่มให้ได้รับอาหารทดลองซึ่งเป็นสูตรอาหารสำหรับพ่อพันธุ์สุกร (อาหารพื้นฐาน) โดยมีการเสริมและไม่เสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ดังต่อไปนี้

กลุ่มที่ 1: อาหารพื้นฐานไม่เสริม ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (กลุ่มควบคุม)

กลุ่มที่ 2: อาหารพื้นฐานเสริม ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร COS 1 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวัน

กลุ่มที่ 3: อาหารพื้นฐานเสริม ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร COS 2 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวัน

ให้อาหารแก่พ่อพันธุ์สุกร 2 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน วันละ 1 มื้อ ในเวลา 7.00 น. โดยอาหารที่ใช้ในการทดลองเป็นอาหารสูตรสุกรพ่อพันธุ์ (อาหารพื้นฐาน) และมีน้ำสะอาดให้ดื่มตลอดเวลาโดยใช้ที่ให้น้ำอัตโนมัติ

2. การศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อ

การรีดเก็บน้ำเชื้อใช้วิธีบีบนวดปลายอวัยวะสืบพันธุ์ของพ่อสุกร (Glove hand method) แล้วทำการรีดเก็บทุกส่วนของน้ำเชื้อ (total semen) ยกเว้นส่วนใสส่วนแรกที่ออกมาโดยมีผ้ากรอสกรองแยกเม็ดสาคูออก ในการรีดเก็บน้ำเชื้อเพื่อบันทึกผลการทดลองใช้ระยะเวลา 12 สัปดาห์ตั้งแต่เริ่มทำการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ โดยมีความถี่ในการรีดเก็บน้ำเชื้อ 1 ครั้งต่อสัปดาห์ การตรวจคุณภาพน้ำเชื้อจะตรวจตามวิธีการของศรีสุวรรณ (2542) ดังนี้

2.1 ปริมาตร (volume) วัดปริมาตรน้ำเชื้อที่รีดเก็บได้จากถุงพลาสติกที่เป็นภาชนะรองรับน้ำเชื้อโดยนำถุงพลาสติกที่มีน้ำเชื้อไปชั่งด้วยเครื่องชั่งดิจิตอล แล้วหักน้ำหนักของถุงพลาสติกออกและนำมาคำนวณเป็นปริมาตรโดยใช้สูตร

ปริมาตร (มิลลิลิตร) = น้ำหนักของน้ำเชื้อ (กรัม) x 0.95

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.2 สี (color) แบ่งระดับคะแนนสีของน้ำเชื้อออกเป็น 4 ระดับ (0-3) คือ

ระดับ 0 หรือ เกรดดี (D) สีของน้ำเชื้อจะใสคล้ายกับน้ำ (watery)
ระดับ 1 หรือ เกรดซี (C) สีของน้ำเชื้อมีสีขุ่นขึ้น (cloudy) ดีกว่าระดับ 0
ระดับ 2 หรือ เกรดบี (B) สีของน้ำเชื้อออกสีขาวขุ่นใกล้เคียงสีของน้ำนม (milky)
ระดับ 3 หรือ เกรดเอ (A) สีของน้ำเชื้อออกสีขาวขุ่น เหมือนสีครีม (thick creamy)

2.3 ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของน้ำเชื้อ วัดโดยใช้เครื่องวัด pH meter

2.4 ความเข้มข้นของตัวอสุจิในน้ำเชื้อ (sperm concentration) โดยใช้เครื่องวัดความเข้มข้นของน้ำเชื้อ (spermacue photometer)

2.5 คำนวณจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในน้ำเชื้อ (total sperm) จากสูตร

จำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในน้ำเชื้อ = ปริมาตรน้ำเชื้อ (มล.) x ความเข้มข้นของตัวอสุจิในน้ำเชื้อ (10^6 ตัว/มล.)

2.6 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหว (motile sperm) และทิศทางในการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ ซึ่งได้แก่ อัตราเร็วในการเคลื่อนที่เฉลี่ยเป็นแนวตรงเมื่อเทียบกับการเคลื่อนที่จริงของตัวอสุจิ (Average Path Velocity : VAP, μm/s) อัตราเร็วในการเคลื่อนที่เป็นเส้นโค้งของตัวอสุจิ (Curvilinear Velocity : VCL, μm/s) อัตราเร็วในการเคลื่อนที่เป็นเส้นตรงจากจุดเริ่มต้นถึงจุดสุดท้ายของตัวอสุจิ (Straight Line Velocity: VSL, μm/s) และ เปอร์เซ็นต์ progressive movement โดยการเจือจางน้ำเชื้อกับสารละลายน้ำเชื้อ สูตร NSRTC 4 ในอัตราส่วน 1:3 และนำน้ำเชื้อที่ทำการเจือจางแล้วไปประเมินโดยเครื่องตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ (WLJY-9000 Dynamic Software)

2.7 เปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิต (live sperm) และลักษณะความผิดปกติของรูปร่างตัวอสุจิ (Sperm morphology) ตรวจสอบโดยนำสีย้อม อีโอซิน-นิโกรซินที่อุ่นแล้วใส่ในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตรจำนวน 3-5 หยด ต่อน้ำเชื้อ 1 หยด เขย่าเบาๆให้น้ำเชื้อและสีย้อมเข้ากัน จากนั้นใช้ Micropipette ดูดขึ้นมาแล้วนำมาหยดลงบนแผ่นสไลด์ที่สะอาด แล้วใช้ปลายของสไลด์อีกแผ่นหนึ่งวางทำมุม 30-40 องศา ตรงตำแหน่งที่หยดแล้วลากสไลด์ ให้เป็นแผ่นฟิล์มบางๆ ปล่อยให้สไลด์แห้ง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แล้วจึงนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า นับตัวอสุจิทั้งหมด 200 ตัว แล้วคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของอสุจิที่ผิดปกติแต่ละลักษณะ และตรวจสอบ live sperm โดยการนับจำนวนตัวอสุจิ โดยดูการติดสีและไม่ติดสีของตัวอสุจิ ตัวอสุจิย้อมแล้วติดสีโดยมีลักษณะเป็นสีม่วงหรือสีชมพูบริเวณส่วนหัวแสดงว่าเป็นอสุจิตัวตาย ซึ่งอสุจิตัวเป็น (live sperm) จะไม่ติดสีบริเวณส่วนหัว

3. การวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH radical scavenging activity)

ทำการเก็บตัวอย่างน้ำเชื้อสดของพ่อสุกรทุกตัว โดยเก็บตัวอย่างเมื่อเริ่มต้นวันที่ 1 ของการทดลอง วันที่ 45 วันและวันที่ 90 วัน ของการทดลอง ปริมาตร 10 ซีซี ต่อตัวและแยกเก็บส่วนของเซมินัล พลาสมา จากพ่อสุกรตัวละ 5 ซีซีเก็บรักษาเซมินัล พลาสมาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging activity ตามวิธีของ Brand-William *et al.*, (1995)

4. การบันทึกข้อมูล

4.1 บันทึกข้อมูลคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อสุกรแต่ละตัวดังต่อไปนี้

4.1.1 ปริมาตรของน้ำเชื้อ (volume)
4.1.2 สีของน้ำเชื้อ (color)
4.1.3 ความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำเชื้อ (pH)
4.1.4 ความเข้มข้นของตัวอสุจิในน้ำเชื้อ (sperm concentration)
4.1.5 จำนวนตัวอสุจิทั้งหมดต่อการหลั่งแต่ละครั้ง (total sperm /ejaculate)
4.1.6 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหว (motile sperm)
4.1.7 ความเร็วและทิศทางในการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ (velocity and movement) ซึ่งได้แก่ VCL, VSL, VAP และ เปอร์เซ็นต์ progressive movement

4.1.8 เปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิต (live sperm)
4.1.9 ความผิดปกติของตัวอสุจิ (sperm abnormality)

4.2 บันทึกความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) ของพ่อสุกรหลังได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ในวันที่ 1, 45 และ 90 ของการทดลอง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) ตามแผนการทดลองแบบ Repeated Measurement in CRD (Complete Randomized Design) แล้วเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS (2003) ซึ่งมีแบบหุ่นจำลองทางสถิติดังนี้

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + \delta_{ij} + W_k + TW_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Y_{ijk} = ค่าสังเกตจากปัจจัยของช่วงเวลา ที่ k ซ้ำที่ j และ treatment ที่ i

μ = ค่าเฉลี่ยทั้งหมดในการทดลอง

T_i = อิทธิพลเนื่องจากปัจจัย treatment ที่ระดับ i เมื่อ i = 1, 2, 3

W_k = อิทธิพลเนื่องจากปัจจัยช่วงเวลา ที่ระดับ j เมื่อ j = 1, 2, 3,…, 12

TW_{ij} = อิทธิพลร่วมเนื่องจากปัจจัย treatment ที่ระดับ i และช่วงเวลา ที่ระดับ j

δ_{ij} = อิทธิพลเนื่องจากตัวสัตว์หรือหน่วยทดลองที่ระดับ j ใน treatment ที่ I เมื่อ j = 1, 2, 3, 4, 5

ε_{ijk} = ค่าความคลาดเคลื่อน

6. สถานที่ทำการทดลอง

6.1 ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม

6.2 ห้องปฏิบัติการสรีรวิทยา ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม

6.3 ห้องปฏิบัติการภาควิชาเวชศาสตร์และทรัพยากรการผลิตสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

7. ระยะเวลาในการทำการทดลอง

เริ่มต้นการทดลอง: มกราคม พ.ศ. 2553
สิ้นสุดการทดลอง: เมษายน พ.ศ. 2553

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์

จากการศึกษาผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ต่อคุณภาพน้ำเชื้อ พบว่า ระยะเวลาการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์กับจำนวนครั้งที่รีดน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกรไม่มีอิทธิพลร่วมกันทางสถิติ (P>0.05)

1. การศึกษาผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร

1.1 ปริมาตร (volume)

การศึกษาผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารพ่อพันธุ์สุกรต่อปริมาตรของน้ำเชื้อ พบว่า พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์สูตร 1 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวัน และกลุ่มที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร 2 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวัน มีปริมาตรน้ำเชื้อเฉลี่ยเท่ากับ 223.05, 222.78 และ 240.92 มิลลิลิตร ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 4 การเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ไม่ได้ช่วยทำให้ปริมาตรของน้ำเชื้อเพิ่มขึ้น แสดงว่า ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ไม่ได้ไปช่วยทำให้ accessory gland มีการผลิต seminal plasma เพิ่มขึ้น จากรายงานของศรีสุวรรณ (2542) รายงานว่าปริมาตรน้ำเชื้อของสุกรที่รีดเก็บได้ ตามปกติมีตั้งแต่ 80-300 มิลลิลิตร ซึ่งจะแปรผันมากน้อยแค่ไหนขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น อาหาร ฤดูกาล อายุ ความชำนาญของการรีดน้ำเชื้อ ความถี่ในการรีดเก็บน้ำเชื้อ เวลาในการรีดเก็บ และพ่อสุกรแต่ละตัว เป็นต้น

1.2 สีของน้ำเชื้อ (color)

การศึกษาผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารพ่อพันธุ์สุกรต่อลักษณะสีของน้ำเชื้อ พบว่า พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์สูตร 1 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวัน และกลุ่มที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคา-ไรด์สูตร 2 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวัน มีค่าเฉลี่ยคะแนนสีของน้ำเชื้อเท่ากับ 2.88, 2.89และ 2.93 ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 4 การเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ไม่ได้ช่วยทำให้สีของน้ำเชื้อในกลุ่มที่เสริมไคโตโอลิโกแซคคา-ไรด์ แตกต่างจากกลุ่มควบคุม เมื่อพิจารณาสีของน้ำเชื้อจากการทดลองทั้ง 3 กลุ่มการทดลอง มีลักษณะสีขาวขุ่นใกล้เคียงกับสีของน้ำนม โดยความเข้มข้นที่ระดับนี้จะมีตัวอสุจิในน้ำเชื้อมาก ประมาณ 300-400

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ล้านตัวต่อมิลลิลิตร ซึ่งสีของน้ำเชื้อมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของอสุจิต่อมิลลิลิตร โดยถ้าสีของน้ำเชื้อขุ่นมาก ความเข้มข้นของอสุจิต่อมิลลิลิตรจะสูง (ศรีสุวรรณ, 2542)

1.3 ความเป็นกรด-ด่างของน้ำเชื้อ (pH)

การศึกษาผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารพ่อพันธุ์สุกรต่อลักษณะความเป็นกรด-ด่างของน้ำเชื้อ พบว่า พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร 1 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวันและกลุ่มที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร 2 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.27, 7.24 และ 7.26 ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 4 จากผลการทดลองนี้ แสดงให้เห็นว่าไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ไม่มีผลต่อความเป็นกรด-ด่างของน้ำเชื้อ ศรีสุวรรณ (2542) รายงานว่า ความเป็นกรด-ด่างของน้ำเชื้อพ่อสุกรอยู่ระหว่าง 6.8-7.8 และภายหลังรีดออกมาควรอยู่ในช่วง 7.2-7.5 ซึ่งความเป็นกรด-ด่างยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆ เช่น การใช้น้ำตาลฟรักโทสของตัวอสุจิ การปนเปื้อนของน้ำปัสสาวะขณะรีดน้ำเชื้อ พันธุ์ของพ่อสุกร ความแตกต่างระหว่างพ่อสุกรแต่ละตัวอีกด้วย

1.4 ความเข้มข้นของตัวอสุจิ (sperm concentration)

การศึกษาผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารพ่อพันธุ์สุกรต่อลักษณะความเข้มข้นของตัวอสุจิ พบว่า พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโก-แซคคาไรด์ สูตร 1 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวันและกลุ่มที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร 2 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวัน มีค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของตัวอสุจิเท่ากับ 318.80, 353.21 และ 356.68 ล้านตัวต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 4 ศรีสุวรรณ (2542) รายงานว่าความเข้มข้นของเซลล์อสุจิของพ่อสุกรที่เก็บครั้งหนึ่งๆ ตามปกติมีประมาณ 200-300 ล้านตัวต่อมิลลิลิตร หรือเฉลี่ยประมาณ 250 ล้านตัวต่อมิลลิลิตร ซึ่งจะมีความแปรผันน้อยมากแค่ไหนขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยเช่น อายุ น้ำหนัก ความชำนาญและเทคนิคในการรีดเก็บน้ำเชื้อของแต่ละบุคคล สภาพแวดล้อม ภูมิอากาศ วิธีเก็บรักษา เวลาในการรีด สายพันธุ์ และความถี่ในการรีดเป็นต้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.5 จำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในน้ำเชื้อ (total sperm)

การศึกษาผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ในอาหารพ่อพันธุ์สุกรต่อจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในน้ำเชื้อ พบว่า พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร 1 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวันและกลุ่มที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร 2 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 68.82, 77.59 และ 84.78 ($X 10^6$) ตัว/ครั้งที่หลั่ง ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4 แต่เมื่อพิจารณาจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในน้ำเชื้อโดยเฉลี่ยพบว่า พ่อสุกรที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตรที่ 1 และพ่อสุกรที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตรที่ 2 มีปริมาตรและความเข้มข้นต่อมิลลิลิตรสูง เมื่อเอาค่าทั้ง 2 มาคูณกัน จึงทำให้จำนวนตัวอสุจิรวมมีค่าที่สูงกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งค่าตัวอสุจิรวมมีค่าระหว่าง 30-90 x 10^9 ตัว (Hafez, 1993) 10 – 100 x 10^9 ตัว (อรรณพ, 2545) แต่จากการทดลองนี้กลุ่มที่เสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ มีค่าจำนวนตัวอสุจิรวมที่ค่อนข้างสูง

1.6 แรงดันออสโมติก (osmotic pressure)

การศึกษาผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารพ่อพันธุ์สุกรต่อค่า แรงดันออสโมติค พบว่า พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร 1 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวันและกลุ่มที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร2 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวัน มีค่า แรงดันออสโมติคโดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 314.65, 313.65 และ 316.93 มิลลิออสโมล/กิโลกรัมของน้ำ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4 Gadea (2003) รายงานว่า น้ำเชื้อของพ่อสุกรมีแรงดันออสโมติก 290-300 มิลลิออสโมล/กิโลกรัมของน้ำ หรืออาจมีค่าอยู่ระหว่าง 250-290 มิลลิออสโมล/กิโลกรัมของน้ำได้โดยไม่มีผลเสียต่อการมีชีวิตของอสุจิ จากการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ในการทดลองนี้ไม่ทำให้ค่าแรงดันออสโมติค ของน้ำเชื้อผิดปกติไปจากกลุ่มควบคุม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 4 ผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร

ลักษณะ	อาหารทดลอง			P-value
	ไม่เสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (กลุ่มควบคุม)	ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร 1	ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร 2	
ปริมาตรของน้ำเชื้อที่หลั่งต่อครั้ง (มิลลิลิตร)	223.05±8.47	222.78±4.62	240.92±5.93	0.716
สีของน้ำเชื้อ (0-3)	2.88±0.04	2.89±0.03	2.93±0.03	0.824
ความเป็นกรด-ด่าง	7.27±0.01	7.24±0.01	7.26±0.01	0.786
ความเข้มข้นของตัวอสุจิ($x10^6$ ตัวต่อมิลลิลิตร)	318.80±10.22	353.21±11.46	356.68±8.66	0.631
จำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในน้ำเชื้อ ($x10^9$ ตัว/ครั้งที่หลั่ง)	68.82±2.76	77.59±2.45	84.78±2.39	0.342
Osmotic Pressure (มิลลิออสโมล/กิโลกรัมของน้ำ)	314.65±1.73	313.65±2.11	316.93±2.22	0.667
Motile sperm (เปอร์เซ็นต์)	94.48±0.76	96.46±0.54	97.5±0.23	0.425
Live sperm (เปอร์เซ็นต์)	93.53±0.19^{c}	97.28±0.22^{d}	96.73±0.27^{d}	<0.01
VCL[1] (ไมโครเมตร/วินาที)	73.03±1.33	75.67±1.06	75.01±0.97	0.623
VSL[2] (ไมโครเมตร/วินาที)	41.56±0.59^{a}	47.20±0.55^{b}	46.36±0.57^{b}	0.029
VAP[3] (ไมโครเมตร/วินาที)	49.11±0.79	50.94±0.65	49.31±0.77	0.692
Progressive movement (เปอร์เซ็นต์)	60.06±0.94^{a}	66.23±0.73^{b}	62.3±0.87^{b}	0.036

หมายเหตุ ^{ab} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

^{cd} ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$)

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± standard error)

[1]Curvilinear Velocity, [2]Straight Line Velocity

[3]Average Path Velocity

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.7 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหว (Motile sperm)

การศึกษาผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารพ่อพันธุ์สุกรต่อเปอร์เซ็นต์ Motile sperm พบว่า พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร 1 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวันและกลุ่มที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร 2 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 94.48, 96.46 และ 97.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 4

1.8 เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมีชีวิต (Live sperm)

การศึกษาผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ในอาหารพ่อพันธุ์สุกรต่อเปอร์เซ็นต์ Motile sperm พบว่า พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร 1 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวันและกลุ่มที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร 2 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 93.53, 97.28 และ 96.74 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) ดังแสดงในตารางที่ 4 อาจเนื่องจากไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและการเพิ่มไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ลงไปในอาหาร อาจจะมีส่วนช่วยทำให้ตัวอสุจิมีชีวิตรอดเพิ่มมากขึ้นเพราะ ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีโครงสร้างที่มีหมู่ อะมิโนอิสระ(-NH2) และ หมู่ไฮดรอกซี(-OH) ซึ่งมีความสามารถในการหยุดขบวนการ lipid peroxidation (Xie, Xu & Liu, 2001) โดยให้ไฮโดรเจนแก่เปอร์ออกซิล แรดิคัล(peroxyl radical: RO˙) และอัลคอกซิล แรดิคัล (alkoxyl radical: ROO˙) ทำให้ตัวอสุจิไม่ถูกอนุมูลอิสระเข้ามาทำลาย ซึ่งอนุมูลอิสระต่างๆ สามารถทำให้เกิดการตายของอสุจิได้ โดยอนุมูลอิสระเหล่านั้นจะเร่งให้ไมโตคอนเดรียหลั่งไซโตโครมซีออกมา ทำให้เอนไซม์คาสเพส 8 และ 9 ถูกกระตุ้น ซึ่งเอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้จะไปกระตุ้นให้มีการหลั่งของเอนไซม์คาสเพส 3, 6 และ 7 ส่งผลให้ไซโตพลาสซึม และเยื่อหุ้มเซลล์ของอสุจิเกิดการเปลี่ยนแปลงและเกิดการแตกหักของสายดีเอ็นเอขึ้น เนื่องจากเอนไซม์เอนโดนิวคลีเอสถูกกระตุ้นให้ทำงาน และในที่สุดทำให้เกิดการตายของอสุจิขึ้น (Agarwal *et al*., 2003) และเมื่อนำน้ำเชื้อมาย้อมสีจึงพบว่า ตัวอสุจิของพ่อพันธุ์สุกรในกลุ่มควบคุมซึ่งไม่มีการไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ที่จะไปช่วยป้องกันเยื่อหุ้มเซลล์ ที่ถูกทำลายจากอนุมูลอิสระเหมือนกับน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์สุกรที่มีการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ดังนั้นเยื่อหุ้มเซลล์จึงถูกทำลายได้ง่ายและส่งผลให้ตัวอสุจิตาย สีจึงสามารถซึมเข้าไปบริเวณส่วนหัวของตัวอสุจิได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.9 ความเร็วและทิศทางในการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ (velocity and movement)

การศึกษาผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ในอาหารพ่อพันธุ์สุกรต่อความเร็วและทิศทางในการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ พบว่า พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร 1 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวันและกลุ่มที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร 2 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวัน มีค่าเฉลี่ย VSL เท่ากับ 41.56, 47.20 และ 46.36 ไมโครเมตร/วินาที ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่วนค่าเฉลี่ย VAP มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 49.11, 50.94 และ 49.31ไมโครเมตร/วินาที ตามลำดับ และค่าเฉลี่ย VCL มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 73.03, 75.67 และ 75.01ไมโครเมตร/วินาที ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และเมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์ progressive movement ของพ่อสุกรกลุ่มควบคุม พ่อสุกรกลุ่มที่เสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตรที่ 1 และพ่อสุกรกลุ่มที่เสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตรที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์ progressive movement เท่ากับ 60.06, 66.23 และ 62.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4 ซึ่งการที่ตัวอสุจิสามารถว่ายได้ดีมากขึ้นนั้น ในแง่ของการผสมเทียมแล้วจัดได้ว่าน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกรตัวนั้นเหมาะสมที่จะนำมารีดเก็บน้ำเชื้อ เพื่อนำไปเจือจางเป็นน้ำเชื้อสดหรือน้ำเชื้อแช่แข็ง (ศรี สุวรรณ, 2542) ซึ่งมีผลให้อสุจิมีโอกาสที่จะว่ายไปปฏิสนธิกับไข่ได้สูง Xie, Xu & Liu (2001) กล่าวว่าโครงสร้างของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ซึ่งมีหมู่เอมีนสามารถจับกับอนุมูลอิสระได้ และสลาย peroxide ที่เกิดขึ้นในเซลล์ ซึ่งperoxide เป็นสาเหตุที่ส่งผลให้เซลล์เมมเบรนของ organal ที่สำคัญ เช่นไมโตคอนเดรียถูกทำลาย ซึ่งส่งผลกระทบต่อการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ การเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จึงช่วยให้โครงสร้างของไมโทคอนเดรียที่บริเวณหางส่วนมิดพีชมีรูปร่างปกติ ส่งผลให้สร้างพลังงาน ATP มีประสิทธิภาพที่ดีขึ้น

1.10 ความผิดปกติของตัวอสุจิ

1.10.1 ความผิดปกติในส่วนหัวของอสุจิ

การศึกษาผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ในอาหารพ่อพันธุ์สุกรต่อเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติในส่วนหัวของตัวอสุจิ พบว่า พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มควบคุม พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร 1 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวันและกลุ่มที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร 2 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.6, 1.66 และ 2.06 ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ดัง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แสดงในตารางที่ 5 แสดงว่าการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์อาจจะช่วยป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระจากกระบวนการลิพิดเปอร์ออกซิเดชั่นซึ่งมีผลทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของอสุจิและเยื่อหุ้มไมโทคอนเดรีย (Yue *et al.*, 2009) โดยหมู่อะมิโน และหมู่ไฮดรอกซีสามารถจับกับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นซึ่งจะหยุดการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของอสุจิซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (polyunsaturated fatty acid)จากอนุมูลอิสระ ส่วนหัวของอสุจิก็จะไม่ถูกทำลาย ทำให้ตัวอสุจิมีความสมบูรณ์ของส่วนหัวของอสุจิมากยิ่งขึ้น ส่งผลให้มีความสามารถในการว่ายเพื่อเข้าไปปฏิสนธิกับไข่ได้ดีมากขึ้น (อรรณพ, 2545)

1.10.2 ความผิดปกติในส่วนหางของตัวอสุจิ

การศึกษาผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ในอาหารพ่อพันธุ์สุกรต่อเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติในส่วนหางของตัวอสุจิ พบว่า พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มควบคุม พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มกลุ่มที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร 1 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวัน และกลุ่มที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร2 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.22, 1.34 และ 1.53 ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 5 การเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ไม่ทำให้ความผิดปกติในส่วนหางของตัวอสุจิแตกต่างไปจากกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามจากการศึกษาพบว่า พ่อสุกรทั้ง 3 กลุ่มมีความผิดปกติส่วนหางของอสุจิอยู่ในช่วงปกติคือ 2-5 เปอร์เซ็นต์ (อรรณพ, 2545)

1.10.3 cytoplasmic droplet ที่ส่วนหางของอสุจิ

การศึกษาผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ในอาหารพ่อพันธุ์สุกรต่อเปอร์เซ็นต์ cytoplasmic droplet ที่ส่วนหางของตัวอสุจิ พบว่า พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มพ่อพันธุ์สุกรกลุ่มกลุ่มที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร 1 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวัน และกลุ่มที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร2 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.49, 1.58 และ 2.02 ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 5 การเสริม ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในการทดลองนี้ไม่ทำให้ เปอร์เซ็นต์ cytoplasmic droplet ที่ส่วนหางของอสุจิ ผิดปกติไปจากกลุ่มควบคุม จากการศึกษาพบว่า พ่อสุกรทั้ง 3 กลุ่มมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ cytoplasmic droplet ที่ส่วนหางของอสุจิอยู่ในช่วงปกติคือ 2-5 เปอร์เซ็นต์ (อรรณพ, 2545) รายงานของ สุธาทิพย์ (2550) กล่าวว่าหยดน้ำที่เกิดขึ้นบนส่วนหางของตัวอสุจิจะเกิดขึ้นในระหว่างการสร้างตัวอสุจิ หยดน้ำนี้จะถูกสลัดออกเมื่อตัวอสุจิเคลื่อนตัวมาอยู่ที่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บริเวณท่อเก็บน้ำเชื้อข้างลูกอัณฑะ (epididymis) หากหยดน้ำนี้ไม่ถูกสลัดออกไปจากหางตัวอสุจิที่หลั่งออกมาจะมีหยดน้ำอยู่ที่ส่วนหาง ซึ่งถือว่าเป็นตัวอสุจิที่ผิดปกติ (Kuster *et al.,* 2004)

ตารางที่ 5 การเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ต่อความผิดปกติของตัวอสุจิ

ลักษณะ	อาหารทดลอง			P-value
	ไม่เสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (กลุ่มควบคุม)	ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร 1	ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร 2	
ความผิดปกติที่ส่วนหัว (เปอร์เซ็นต์)	2.6±0.32[a]	1.66±0.17[b]	2.06±0.27[b]	0.0457
ความผิดปกติที่ส่วนหาง (เปอร์เซ็นต์)	1.22±0.1	1.34±0.15	1.53±0.15	0.530
Cytoplasmic droplet (เปอร์เซ็นต์)	1.79±0.23	1.58±0.21	1.62±0.47	0.605

หมายเหตุ [ab] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทาง สถิติ ($P<0.05$)
ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± standard error)

2. การศึกษาผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ(DPPH) ในเซมินัล พลาสมา

การศึกษาผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารพ่อพันธุ์สุกรต่อเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ซึ่งเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวัดจากการจับของสารต้านอนุมูลอิสระ กับ อนุมูลอิสระที่มีความคงตัว (DPPH) ซึ่งสารละลายจะเปลี่ยนจากสีม่วงเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ถ้ามีเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระสูงแสดงว่าในเซมินัล พลาสมามีสารต้านอนุมูลอิสระอยู่สูง (Brand-William *et al.*, 1995)

ในวันที่ 1 ของการทดลอง พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโก-แซคคาไรด์ สูตรที่ 1 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวัน กลุ่มที่ได้รับการเสริม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตรที่ 2 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวัน มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 76.02, 77.02 และ 75.20 ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) และในวันที่ 45 ของการทดลอง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 77.74, 81.18 และ79.76 ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) และวันที่ 90 ของการทดลอง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 74.4, 82.73 และ79.69 แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในตารางที่6 จากผลการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ พบว่าในวันที่ 1 ของการทดลอง เปอร์เซ็นต์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มที่เสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จะต่ำกว่ากลุ่มควบคุม อาจเป็นเพราะพ่อพันธุ์สุกรถูกเลี้ยงในโรงเรือนเปิด ทำให้ควบคุมสภาพแวดล้อมภายในโรงเรือนเป็นไปได้ยาก โดยเฉพาะอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ สุกรจึงอาจเกิดความเครียดจากอากาศร้อนได้ง่าย (นพนันท์, 2532) ซึ่งส่งผลให้ร่างกายสะสมอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น ในวันที่ 45 ของการทดลอง พบว่า พ่อสุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ทั้งสูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 มีแนวโน้มเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้น อาจเป็นเพราะไคโตโอลิโกแซคคาไรด์เริ่มไปมีผลต่อการเข้าจับกับสารอนุมูลอิสระทำให้ลดการเกิดปฏิกิริยา ณ จุดเริ่มต้น หรือไม่ก็ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ ทำให้ไม่เกิดปฏิกิริยาเมื่อสารอนุมูลอิสระมีจำนวนน้อยลง ปฏิกิริยาดังกล่าวในตอนแรกก็น้อยลงด้วย การกระทบต่อเยื่อหุ้มเซลล์หรือดีเอ็นเอก็เกิดน้อยลง (อนันต์, 2551) มีผลทำให้ตัวอสุจิถูกทำลายโดยอนุมูลอิสระลดลง

ตารางที่ 6 ผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเซมินัล พลาสมา

ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (เปอร์เซ็นต์)	อาหารทดลอง			P-value
	ไม่เสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (กลุ่มควบคุม)	ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร 1	ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร 2	
วันที่ 1	79.40±2.98	78.44±5.04	76.36±7.19	0.9763
วันที่ 45	77.74±4.03	81.17±2.2	79.75±3.30	0.7612
วันที่ 90	74.39±3.18	82.72±3.84	79.69±2.47	0.2205

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± standard error)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

ผลจากการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ทั้ง สูตรที่ 1 และ ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตรที่ 2 ในอาหารพ่อพันธุ์สุกรต่อคุณภาพน้ำเชื้อ สามารถสรุปได้ดังนี้

1. การเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ทั้ง สูตรที่ 1 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวัน และไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตรที่ 2 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวัน มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อในลักษณะอัตราเร็วในการเคลื่อนที่เป็นเส้นตรงจากจุดเริ่มต้นถึงจุดสุดท้ายของตัวอสุจิเพิ่มสูงขึ้น ($P<0.05$) เปอร์เซ็นต์ Progressive movement ที่สูงขึ้น ($P<0.05$) เปอร์เซ็นต์ความผิดปกติในส่วนหัวของตัวอสุจิลดลง($P<0.05$) และมีเปอร์เซ็นต์ live sperm ที่สูงกว่า ($P<0.01$) แต่การเสริมการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร 1 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวัน และกลุ่มที่ได้รับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตร 2 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวัน ไม่มีผลต่อลักษณะสี ความเป็นกรดด่าง ความเข้มข้นของตัวอสุจิ เปอร์เซ็นต์ความผิดปกติในส่วนหาง เปอร์เซ็นต์ cytoplasmic droplet อัตราเร็วในการเคลื่อนที่เป็นเส้นโค้งของตัวอสุจิ อัตราเร็วในการเคลื่อนที่เฉลี่ยเป็นแนวตรงเมื่อเทียบกับการเคลื่อนที่จริงของตัวอสุจิ และเปอร์เซ็นต์ motile sperm ของตัวอสุจิ ($P>0.05$)

2. การเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ทั้ง สูตรที่ 1จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวัน และไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สูตรที่ 2 จำนวน 200 ppm ต่อกิโลกรัมอาหารต่อวัน ไม่มีผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ($P>0.05$) แต่ถ้าเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์นานขึ้น น่าให้ผลที่ดีขึ้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นถึงการใช้ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ในอาหารพ่อพันธุ์สุกร ควรศึกษาไคโตโอลิโกแซคคาไรด์เพิ่มเติมในการเติมลงในสารละลายน้ำเชื้อ (extender)

2. ควรจะทำการศึกษาเพิ่มเติมถึง ระดับการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ในระดับที่เหมาะสม สำหรับพ่อพันธุ์สุกร เนื่องจากยังไม่มีผู้ใดทำการศึกษามาก่อน

3. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึง การวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในซีรั่มของพ่อพันธุ์สุกรเมื่อเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ เพราะในไคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีคุณสมบัติความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

4. ควรทำการศึกษาการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ โดยใช้ระยะเวลาในการศึกษาให้นานกว่านี้ ซึ่งน่าจะเห็นผลที่ชัดเจนมากยิ่งขึ้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

นพนันท์ แมนธนานนท์. 2532. **การศึกษาสมรรภาพการสืบพันธ์ของสุกรเพศผู้ลาจน์ไวท์ ณ สถานีปรับปรุงพันธุ์สุกรทับกวาง.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บุญล้อม ชีวะอิสระกุล. 2546. **ชีวเคมีทางสัตวศาสตร์**. พิมพ์ครั้งที่ 2. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2547. **เอนไซม์ทางอาหาร**. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์. 2543. **การใช้ไคติน-ไคโตซานเป็นสารเร่งการเจริญเติบโตในสุกร**. การประชุมสัมมนาพร้อมนิทรรศการ : เกษตรยุคใหม่กับไคติน-ไคโตซาน, 9-10 พฤศจิกายน, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

พีรศักดิ์ สุทธิโยธิน. 2548. **สรีรวิทยาการสืบพันธุ์ของสัตว์เลี้ยง**. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

วิชัย เอื้อสิยาพันธุ์. 2545**. ชีวเคมีทางการแพทย์**. บริษัท บุ๊คเน็ท จำกัด, กรุงเทพฯ.

ศรีสุวรรณ ชมชัย. 2542. **คู่มือปฏิบัติการผสมเทียมในสุกร**. สำนักพิมพ์สัตวเศรษฐกิจ, กรุงเทพฯ.

สุธาทิพย์ ไชยวงศ์. 2550. **การศึกษาคุณลักษณะทางด้านรูปร่างของอสุจิสุกร และการใช้ประโยชน์น้ำเชื้อเจือจางในการผสมเทียม.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุรชัย ชาครีรัตน์. 2545. **การสืบพันธุ์และการผสมเทียมโค-กระบือ**. สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อนันต์ สกุลกิม. 2551. **อนุมูลอิสระ สารอันตรายต่อสุขภาพและร่างกาย**. บทความวิชาการ: ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์ ปีที่ 8(1) คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา, กรุงเทพฯ.

อรรณพ คุณาวงษ์กฤต. 2545. **วิทยาการสืบพันธุ์สุกร.** สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

โอภา วัชระคุปต์. 2550. **สารต้านอนุมูลอิสระ.** บริษัทนิวไทยมิตรการพิมพ์ (1996) จำกัด, กรุงเทพฯ.

Agarwal, A., R. A. Saleh and M. A. Bedaiwy. 2003. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. **Fertil. Steril.** 79(4): 829-843.

_____, G.H., Rakwal, S. Tamogami, M. Yonekura, A. Kubo and H. Saji. 2002. Chitosan activates defense/stress response(s) in the leaves of *Oryza sativa* seedlings. **Plant Physiology and Biochemistry**. 40: 1061-1069.

Akira, M.N. 1988. **The Ultimate Health Builder**. President of the Chitin-Chitosan Association for Clinical Use and Research.

Ames, B.N., L.S. Gold and W.C. Willett. 1995. The causes and prevention of cancer. **Proc. Natl. Acad. Sci.** 92: 5258-5265.

Bearden, H.J. and J.W. Fuquay. 1984. **Applied anumal reproduction**. 2nd ed. Reston bublishing company. Inc. USA.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm.-Wiss.u.-Technol**. 28: 25 – 30.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Bottje, W., B. Enkvetchakul and R. Moore. 1995. Effect of α-tocopherol on antioxidants, lipid peroxidation, and the incidence of pulmonary hypertension syndrome (ascites) in broilers. **Poult. Sci.** 74: 1356-1369.

Buhr, M.M**. Collecting boar semen**. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. [serial online] 17 August 1994. [cited 2000 Jan.8] Avialable Source : http://www.gov.on.ca/OMAFRA/english/livestock/swine/facts/semen.htm.

Fridovich, I. 1975. Superxoide dismutase. **Am. Rev. Respir. Dis.** 44: 147.159.

_____, I. and B. Freeman. 1986. Antioxidant defenses in the lung. **Annu. Rev. Physiol**. 48: 693-702.

Gadea, J. 2003. Semen extenders used in the artificial insemination of swine. **Spanish Journal of Agricultural Research.** 1(2):17-27.

Gordon, I. 1997. **Controlled Reproduction in Pigs**. CAB International. The UK at the University Press. 67(8): 1573-1576.

Greenberg, L.G. and J.P. Mahone. 1981. The effect of a 15-H photoperiod on reproductive function in boars at 2, 3, 4 or 5 months of age**. Can. J. Anim. Sci**. 61(3-4): 925-934.

Hadwiger, L. A., & Beckman, J. M. 1980. Chitosan as a component of pea Fusarium solani interactions. **Plant Physiology**. 66: 205–211.

Hafez, E.S.E. 1970. **Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals**. Lea and Febiger. Philadephia.

_____, E.S.E. 1974**. Reproduction in Farm Animals**. 3rd ed. Lea & Febiger. USA.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

_____, E.S.E. 1993. **Reproduction in Farm Anim**als. 6th ed. Reproductive Health Center, South Cololina. USA.

Heffner, J.E. and Repine. 1989. Pulmonary strategies of antioxidant defense. **Am. Rev. Respir. Dis.** 140: 531-554.

Heider, T.L., D.T. Mahmoud and S.D. Hojatollah. 2005. Malondialdehyde levels in sperm and seminal plasma of asthenozoospermic and its relationship with semen parameters. **Clini. Chim. Acta.** 356: 199-203.

Hemsworth, P.H., C.G. Winfield and W.A. Chamley. 1981. The influence of the presence of the female on the sexual behaviour and plasma testosterone levels of the mature male pig. **Anim. Prod**. 32: 61 – 65.

Jeon, Y. J., & Kim, S. K. 2001. Potential immuno-stimulating effect of antitumoral fraction of chitosan oligosaccharides. **Journal of Chitin and Chitosan**. 6: 163–167.

Jeon, Y. J., & Kim, S. K. 2002. Antitumor activity of chitosan oligosaccharides produced in ultrafiltration membrane reactor system. **Journal of Microbiology and Biotechnology**. 12: 503–507.

Jeon, Y. J., Park, P. J., & Kim, S. K. 2001. Antimicrobial effect of chitooligosaccharides produced by bioreactor. **Carbohydrate Polymers**. 44: 71–76.

Kim, S. K., Jeon, Y. J., & Zan, H. C. 2000. Antibacterial effect of chitooligosaccharides with different molecular weights prepared using membrane bioreactor. **Journal of Chitin and Chitosan**. 5: 1–8.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Kennedy, B.W. and J.N. Wilkins. 1984. Boar, Breed and environmental factors influencing semen characteristics of boars used in artificial insemination. **Can J. Anima. Sci**. 64(4): 833-843.

Kunavongkrit, A. and P. Preteep. 1995. Inflence of ambient temperature on reproductive efficiency in pigs: (1) boar semen quality. **The Pig Journal**. 101: 43-47.

Kuster, C.E., R.A. Hess and G.C. Althouse. 2004. Immunofluorescence reveals ubiquitination of retained distal cytoplasmic droplets on ejaculated porcine spermatozoa. **J. Androl.** 25(3): 340-347.

Laing, J.A., W.J.B. Morgan, and W.C. Wagner. 1988. **Fertility and Infertility in Veterinary Practice**. 4th ed. Bailliere Tindall. Great Britain at the University Press. London. England.

McIntosh, B. **Pig semen collection and processing**. DPI note. [serial online] June 1998. [cited 2000 April 2] Avialable Source : http://www2 .dpi.qld.gov.au/dpinotes/animals/pigs/reproduce/p98132.html.

Papus, M. A. 1998. **Antioxidants Status, Diet, Nutrition and Health U. S. A**: CRC Press.

Rozeboom, K.J. **Evaluating boar semen quality**. Animal Science Facts. [Serial online] 1 June 2000 [cited 2000 April 2] Avalable Source : http://mark.asci.nesu.edu./Publications/factsheets/812s.htm

Saacke, R.G. 1982. Semen quality in relation to sperm preservation. **J. Dairy Sci**. 66(11): 2635-2644.

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

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Senger, P.L. 1999. **Pathway to pregnancy and parturition**. 1th ed. Current Conception, Inc., Washington.

Sernia, C., W.G. Thomas, and R.T. Gemmell. 1991. Oxytocin receptors in the mammary gland and reproductive tract of a marsupial, the Brushtail Possum *(Trichosurus vulpecula).* **Biol. Reprod.** 45(4): 673-679.

Sorensen, A.M. 1979. **Animal Reproduction**. McGraw-Hill, Inc. USA.

Suzuki, K., Mikami, T., Okawa, Y., Tokoro, A., Suzuki, S., and Suzuki, M. 1986. Antitumor effect of hexa-N-acetylchitohexaose and chitohexaose. **Carbohydrate Research**. 151: 403–408.

Suzuki, S., Watanabe, T., Mikami, T., Matsumoto, T., and Suzuki, M. 1992. Immuno-enhancing effects of N-acetylchitohexaose. In C. J. Brine, P. A. Sanford, and J. P. Zikakis (Eds.), **Advances in chitin and chitosan.** (pp. 277–316). Barking, UK: Elsevier.

Swierstra, E.E. 1973. Influence of breed, age, and ejaculation frequency on boar semen composition. **Can. J. Anim. Sci**. 53(1-4): 43-53.

_____, E.E. and G.W. Dyck. 1976. Influence of the boar and ejaculation frequency on pregnancy rate and embryonic survival in swine**. J. Anim. Sci**. 42(2): 455-460.

Trudeau,. V. and L.M. Sanford. 1986. Effect of season and social environment on testis size and semen quality of the adult landrace boar. **J. Anim. Sci**. 63(3-4): 1211 – 1219.

Uchida, Y., Izume, M., & Ohtakara, A. 1989. Preparation of chitosan oligomers with purified chitosanase and its application. In G. Skjak- Braek, T. Anthonsen, and P. Sandford (Eds.), **Chitin and chitosan** (pp. 373–382). Barking, UK: Elsevier.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Watson, E.D., E. Nikolokopoulos, C. Gilbert and J. Goode. 1999. Oxytocin in the semen and gonads of the stallion**. Theriogenology**. 51:855-865.

Wettermann, R.P., M.E. Wells and R.K. Johnson. 1979. Reproductive characteristics of boars during and after exposure to increased ambient temperature. **J. Anim. Sci**. 49(6): 1501 – 1505.

_____, R.P., M.E. Wells, I.T. Omtvedt, C.E. Pope and E.J. Turman. 1976. Influence of elevated ambient temperature on reproductive performance of boars. **J. Anim Sci**. 42(3): 664 – 669.

Xie, W., Xu, P., & Liu, Q. 2001. Antioxidant activity of water-soluble chitosan derivatives. **Bioorganic and Medical Chemistry Letters**. 11: 1699–1701.

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

Yue, D., L. Yana, H. Luo, X. Xu and X. Jin. 2009. Effect of Vitamin E supplementation on semen quality and the testicular cell membranal and mitochondrial antioxidant abilities in Aohan fine-wool sheep. **Anim. Repro. Sci.** doi:10.1016/j.anireprosci.2009.08.004.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 1 ส่วนประกอบของอาหารควบคุม

วัตถุดิบ	เปอร์เซ็นต์
ข้าวโพด	6.17
มันสำปะหลัง	30.00
รำละเอียด	21.24
รำสกัดน้ำมัน (16% โปรตีน)	20.81
กากน้ำตาล	3.96
กากถั่วเหลือง	14.85
แคลเซียมคาร์บอเนต	1.24
ไดแคลเซียมฟอสเฟต	0.25
เกลือ	0.50
พรีมิกซ์สุกรพันธุ์	0.99
รวม	100.00
ปริมาณโภชนะโดยการคำนวณ	
โปรตีน	14.74
พลังงาน (กิโลแคลอรี่/กิโลกรัม)	2,934.08
ไขมัน	5.24
เยื่อใย	6.89
แคลเซียม	1.09
ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้	0.45
ไลซีน	0.76

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 2 สูตรสารละลายน้ำเชื้อ NSRTC 4

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (กรัม)
กลูโคส	30.0
อีดีทีเอ	3.7
ซิตริค แอซิค	3.0
ทรีส (ไฮดรอกซีเมทธีล) อมิโนมีเทน	5.0
ไตรโซเดียมซิเตรตไดไฮเดรท	4.4
โซเดียมไบคาร์บอเนต	1.2
โปแตสเซียมคลอไรด์	0.3
นีโอมัยซินซัลเฟต	1.0
เติมน้ำกลั่นให้ครบ	1,000 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ–นามสกุล	นายธนกร เพชรพุ่มพวง
วัน เดือน ปี ที่เกิด	23 กันยายน 2528
สถานที่เกิด	จังหวัดเพชรบุรี
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (สัตวศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน พ.ศ. 2550

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์