ผลของดีแอล–เมทไธโอนีน และดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอค ต่อสมรรถภาพการผลิต เมทาบอลิซึมของไขมัน และการสะสมแร่ธาตุในไก่กระทงเพศผู้

Effects of DL-Methionine and DL-Methionine Hydroxy Analogue on Production Performance, Lipid Metabolism and Minerals Retention of Male Broiler Chicken

คำนำ

โปรตีนและกรดอะมิโนมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของสัตว์ ปัจจุบันการประกอบสูตรอาหารของไก่กระทงส่วนใหญ่ใช้ข้าวโพดและกากถั่วเหลือง ซึ่งมีกรดอะมิโนเมทไธโอนีนต่ำกว่าความต้องการของไก่กระทง ทำให้ไก่กระทงขาดเมทไธโอนีนมากขึ้น (Garlich and Schisla, 1983) เพราะเมทไธโอนีนเป็นกรดอะมิโนจำกัดอันดับหนึ่งของสัตว์ปีก (First-limiting amino acid) ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ได้เพียงพอต่อความต้องการ โดยร่างกายต้องการเมทไธโอนีนเพื่อขบวนการสังเคราะห์โปรตีน เป็นสารตั้งต้นของกรดอะมิโนซีสติอีน เป็นสารตัวกลางที่ให้หมู่เมธิล และเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์โพลีเอมีน (Wallis, 1999) นอกจากนี้เมทไธโอนีนยังเป็น Lipotropic amino acid ซึ่งมีผลต่อเมทาบอลิซึมของไขมันในร่างกาย และเกี่ยวข้องกับโคลีนและขบวนการสังเคราะห์ฟอสโฟติดิลโคลีนในร่างกายไก่กระทง

การเสริมเมทไธโอนีนสังเคราะห์ทำให้กรดอะมิโนมีความสมดุล (Bunchasak *et al.,* 1996a, 1996b, 1997) โดยระดับกรดอะมิโนที่สมดุลจะส่งเสริมสมรรถภาพการผลิตและสามารถลดเปอร์เซ็นต์โปรตีนในอาหารลงได้ ปัจจุบันใช้ 2 รูป คือ ชนิดผง หรือ ดีแอล-เมทไธโอนีน (DL-Met) และดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอค (MHA) ซึ่งเป็นของเหลว โดยต่างกันที่ดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคมีหมู่ไฮดรอกซี่ (-OH) แทนหมู่อะมิโน ($-NH_2$) จึงทำให้ดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอค มีความเป็นกรดสูง (pH ~ 1) ซึ่งสัตว์ปีกสามารถเปลี่ยนดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคเป็นดีแอล-เมทไธโอนีนได้ (Patrick and Schaible, 1980)

การใช้ดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคแทนดีแอล-เมทไธโอนีนในอาหาร เพราะราคาถูก โครงสร้างง่ายต่อการเปลี่ยนเป็นดีแอล-เมทไธโอนีน และช่วยลดปริมาณของไนโตรเจนที่ขับออกสู่

สิ่งแวดล้อม แม้ Knight and Dibner (1984) รายงานว่าการดูดซึมเมทไธโอนีนจากสองแหล่งนั้นแตกต่างกัน โดยดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอค มีการดูดซึมแบบ Passive transport (ไม่ใช้พลังงาน) ขณะที่ดีแอล-เมทไธโอนีนดูดซึมแบบ Active transport แต่การนำกรดอะมิโนเมทไธโอนีนไปสังเคราะห์โปรตีนของเนื้อเยื่อมีอัตราเท่ากัน (Dibner and Knight, 1984) จึงทำให้มีรายงานมากมายว่าผลของดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคที่มีต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่กระทงนั้นไม่แตกต่างจากดีแอล-เมทไธโอนีน (Dibner, 1983; Elkin and Hester, 1983 และ Garlich, 1985)

โดยทางทฤษฎีดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอค มี Bioefficacy ที่ระดับ 88 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เมื่อเปรียบเทียบกับดีแอล-เมทไธโอนีน อย่างไรก็ตามมีการศึกษาในสัตว์หลายชนิดพบว่าดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอค มี Bioefficacy ต่อสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพซากในช่วง 65-90 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ของดีแอล-เมทไธโอนีน (Harms and Russell, 1994; Hoehler and Hooge, 2003) โดย Rostagno and Barbosa (1995) รายงานว่าดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคมีค่า Bioefficacy เมื่อเปรียบเทียบดีแอล-เมทไธโอนีน ประมาณ 72-83 เปอร์เซ็นต์ และ 67-73 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เพื่อการเพิ่มน้ำหนักตัว และประสิทธิภาพการใช้อาหาร ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม Dibner (2003) รายงานว่า Bioefficacy ของดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอค ที่ระดับ 88 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ของสมรรถภาพการผลิตไม่แตกต่างจากดีแอล-เมทไธโอนีน นอกจากนี้ เนติกานต์และคณะ (2548) รายงานว่า การเสริมดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคในอาหารไก่กระทงทำให้น้ำหนักหัวใจลดลงเมื่อเทียบกับการเสริมดีแอล-เมทไธโอนีน จึงอาจเป็นไปได้ว่านอกจากดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคจะมีผลต่อสมรรถภาพการผลิตแล้วยังส่งผลต่อระบบไหลเวียนโลหิตด้วย ซึ่ง Witzel *et al.,* (1990) รายงานว่า การเกิด Ascites ทำให้ค่า Haematocrit จำนวนเม็ดเลือดแดงและ Blood viscosity สูงขึ้น และผนังหัวใจหนาขึ้น (Commerford, 2004)

การวิจัยครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายที่จะศึกษาประสิทธิภาพของดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคเปรียบเทียบกับดีแอล-เมทไธโอนีนในไก่กระทงเพศผู้ โดยดูการตอบสนองต่อสมรรถภาพการผลิต การเกิด Ascites ความเป็นกรด–ด่าง การสะสมแร่ธาตุในร่างกาย เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตไก่กระทงต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาประสิทธิภาพของดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคเปรียบเทียบกับดีแอล-เมทไธโอนีน ต่อสมรรถภาพการผลิตทางด้านการเจริญเติบโต และคุณภาพซากของไก่กระทง

2. ศึกษาผลของการเสริมดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคในอาหาร ต่อลักษณะการเกิด Ascites และความเข้มข้นของสารเมแทบอไลท์ในเลือดไก่กระทง

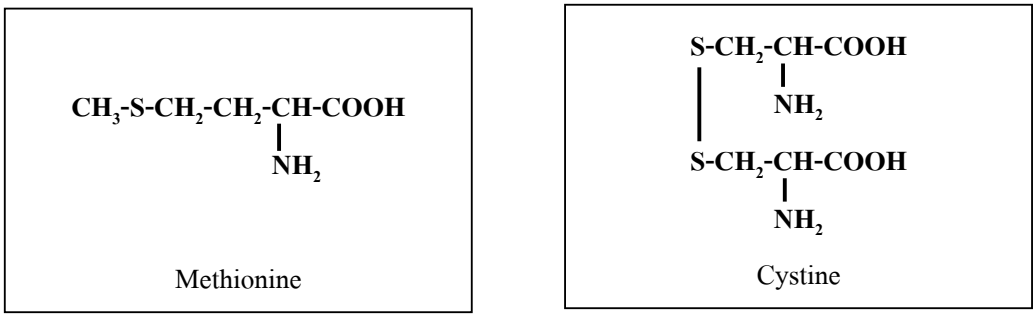
3. ศึกษาผลการเสริมดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคในอาหาร ต่อการสะสมแร่ธาตุในร่างกาย ความเป็นกรด–ด่างของอาหาร ระบบทางเดินอาหารและมูล

4. ศึกษาผลของการเสริมดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอค ต่อองค์ประกอบทางเคมีและไตรกลีเซอไรด์ในตับของในไก่กระทง

การตรวจเอกสาร

1. ลักษณะทั่วไปของเมทไธโอนีน

เมทไธโอนีนจัดอยู่ในกลุ่มของกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ (Sulfur amino acid) ซึ่งมีกรดอะมิโนซีสเตอีน และซีสตีนรวมในกลุ่มด้วย โดยซีสตีนประกอบด้วย ซีสเตอีน 2 โมเลกุลจับกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ (Disulfide bond) ดังภาพที่ 1 ในทางโภชนศาสตร์เรียกกรดอะมิโนกลุ่มนี้ว่า Total sulfur amino acid (TSAA) เมทไธโอนีนมีความสำคัญต่อการสังเคราะห์โปรตีน โดยเป็นกรดอะมิโนที่จำเป็น (Essential amino acid, EAA) ซึ่งหมายถึง กรดอะมิโนที่ร่างกายสัตว์ชั้นสูงสร้างไม่ได้ หรือสร้างได้ไม่เพียงพอกับความต้องการของร่างกาย จำเป็นต้องได้รับจากอาหาร ถ้าขาดจะทำให้เกิดโรคได้ (บุญล้อม, 2541) ส่วนซีสตีนเป็นกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น เนื่องจากร่างกายสามารถสังเคราะห์เองได้ (NRC, 1984) หรือสังเคราะห์ได้จากเมทไธโอนีน



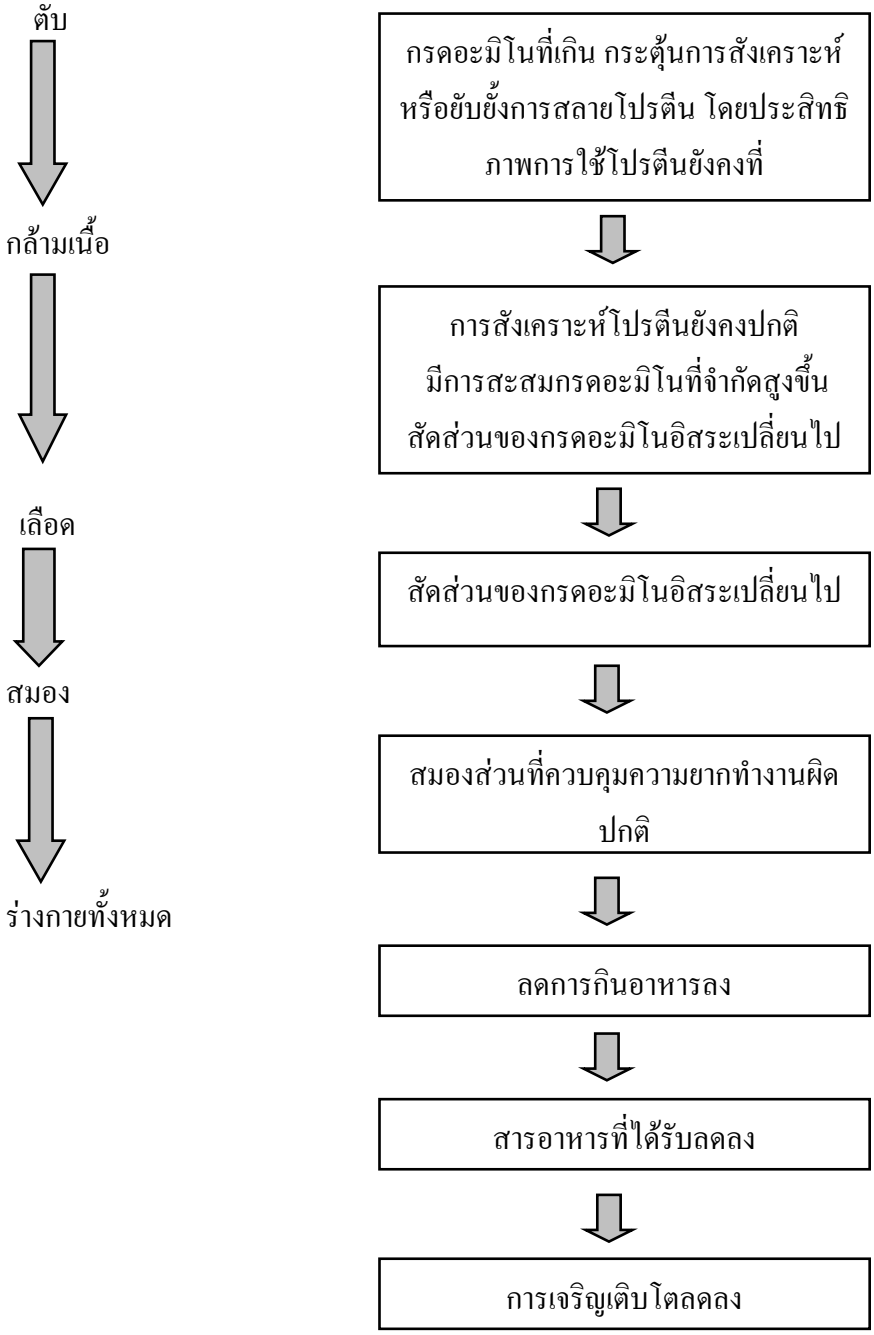
ภาพที่ 1 โครงสร้างของกรดอะมิโนเมทไธโอนีนและซีสตีน
ที่มา: Bunchasak *et al.* (1997)

ลักษณะโครงสร้างทางเคมีของเมทไธโอนีน ประกอบด้วยหมู่คาร์บอซิล (Carboxyl group, -COOH) หมู่อะมิโน (Amino group, $-NH_2$) อะตอมไฮโดรเจน (Hydrogen atom, -H) และมีหมู่ R (Side chain) ที่มีกำมะถันเป็นส่วนประกอบ จัดเป็น Non polar methyl thioester group ที่ทำให้กรดอะมิโนมีคุณสมบัติเป็น Hydrophobic amino acid ดังภาพที่ 1 โดยมีชื่อทางเคมีว่า (S)-2-amino-4-(methylsulfanyl) butyric acid มีสูตรเคมีคือ $C_5H_{11}NO_2S$ น้ำหนักโมเลกุล 131.2 จุดหลอมเหลว 281 °C มีค่า pI เท่ากับ 5.74 ค่า pK_1 (α-COOH) เท่ากับ 2.13 และค่า pK_2 (α-NH_3^+) เท่ากับ 9.28 (อาภัสสรา, 2543)

2. <u>บทบาทและความสำคัญของเมทไธโอนีน</u>

เมทไธโอนีนจัดเป็นกรดอะมิโนที่จำกัดเป็นอันดับหนึ่ง (First-limiting amino acid) ในสัตว์ปีก เพื่อใช้สังเคราะห์โปรตีน สำคัญต่อการเจริญเติบโต ซึ่งไก่กระทงที่ได้รับอาหารที่ขาดเมทไธโอนีนจะมีการสังเคราะห์โปรตีนลดลง (Hiramoto *et al*., 1990) และการขาดเมทไธโอนีนยังส่งผลทำให้การเจริญเติบโตลดลงมากกว่าการขาดไลซีน (Sugahara *et al*., 1969) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องเสริมเมทไธโอนีนในอาหารสัตว์เพื่อให้กรดอะมิโนสมดุล เนื่องจากสัตว์ไม่สามารถสังเคราะห์ได้อย่างเพียงพอ โดย Haper and Rogers (1965) รายงานว่าการเกิดกรดอะมิโนไม่สมดุลขึ้นอย่างรุนแรง ทำให้กรดอะมิโนจำกัดอันดับหนึ่งที่อยู่ในกล้ามเนื้อและเลือดจะลดลง ปรากฏการณ์นี้เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วเพียงไม่กี่ชั่วโมงหลังจากอาหารถูกย่อยแล้ว ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของกรดอะมิโนในเลือดอาจเป็นสัญญาณทางชีวเคมีที่ทำให้เกิดการเบื่ออาหารและพฤติกรรมการกินอาหารเปลี่ยนไป ดังแสดงในภาพที่ 2

กรดอะมิโนเมทไธโอนีนมีบทบาทที่สำคัญหลายด้าน เช่น องค์ประกอบภายในร่างกาย ระบบภูมิคุ้มกัน ระบบสืบพันธุ์ เมทาบอลิซึมของเนื้อเยื่อ การกำจัดสารพิษ เป็นตัวให้หมู่เมธิล ($-CH_3$) ในกระบวนการ Transmethylation ต่างๆ และเป็นสารสำคัญในการสังเคราะห์สารประกอบอื่นอีกหลายชนิด เช่น โฮโมซีสเตอีน ซีสเตอีน คาร์นิทีน ทอรีน ครีเอติน โคลีน เลซิติน ฟอสฟาติดิลโคลีน และฟอสโฟลิปิด หากสารประกอบเหล่านี้มีสัดส่วนไม่สมดุลกับความต้องการของร่างกาย จะส่งผลให้กระบวนการเมทาบอลิซึมของกรดอะมิโนเมทไธโอนีนผิดปกติ และส่งผลต่อการเจริญเติบโตของสัตว์ได้ และยังพบอีกว่ากลุ่มกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ เช่น เมทไธโอนีน ซีสตีน ซีสเตอีน ทอรีน และกลูตาไธโอน จะมีบทบาทสำคัญในการฆ่าเชื้อโรคในเลือด ป้องกันแบคทีเรีย กระตุ้นการหลั่งน้ำดีจากตับ และต่อต้านการสร้างสารพิษ (Scott *et al*., 1982 และ Baker and Czarnecki, 1985) นอกจากนี้เมทไธโอนีนเป็นกรดอะมิโนตัวแรกที่ใช้เป็นรหัสของ codon เริ่มต้น (Initiator codon codes; AUG) ในการสังเคราะห์โปรตีนบนสาย RNA โดยมีชื่อว่า N-formylmethionine (f-met) (ชัยภูมิ, 2548)



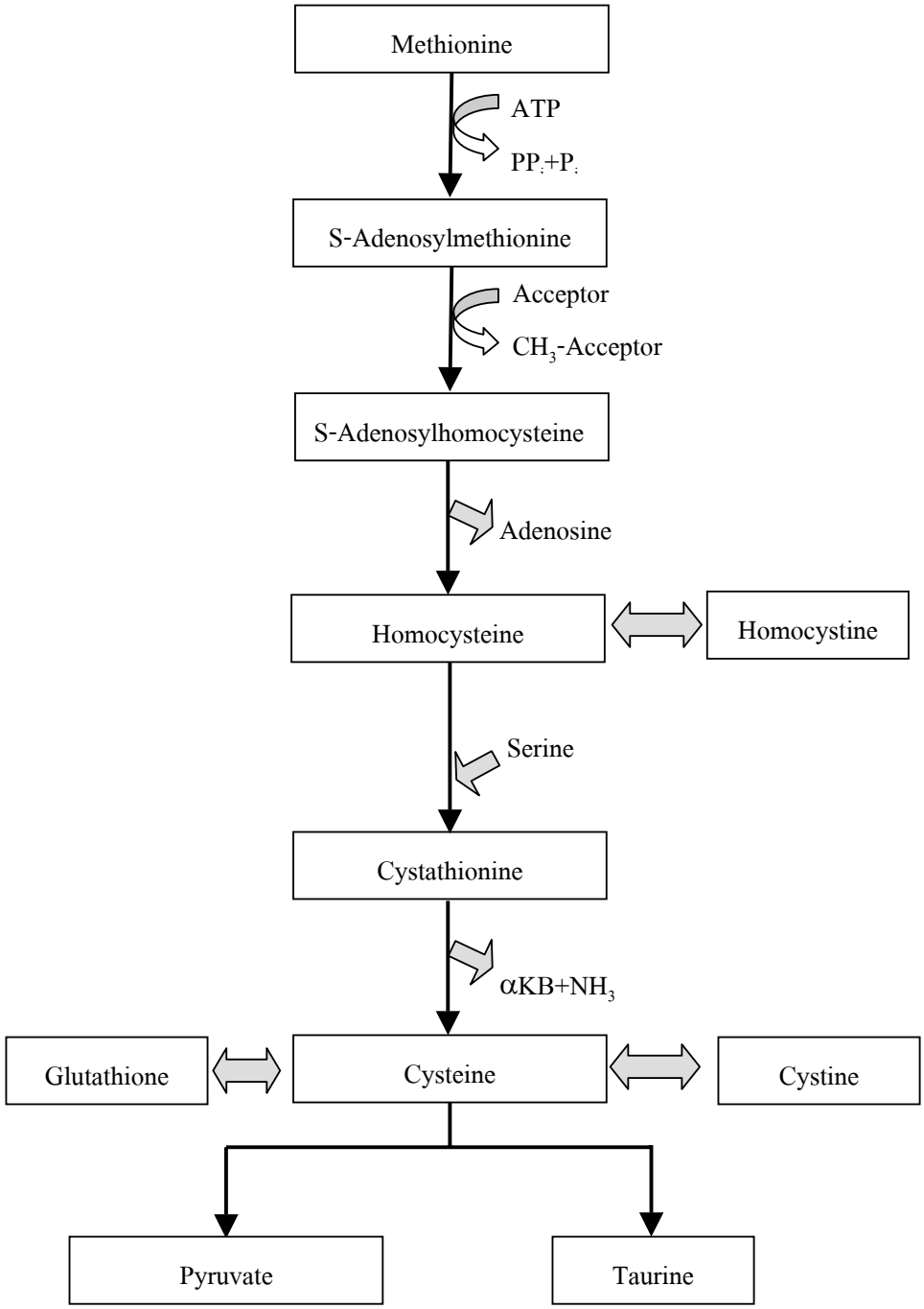
<u>ภาพที่ 2</u> ผลของกรดอะมิโนไม่สมดุลต่อร่างกายสัตว์

ที่มา: ชัยภูมิ (2548) ดัดแปลงจาก Haper and Rogers (1965)

3. <u>ขบวนการเมทาบอลิซึมของเมทไธโอนีนในไก่กระทง</u>

กระบวนการเมทาบอลิซึมของกรดอะมิโนเมทไธโอนีนส่วนมากจะเกิดที่ตับ สัตว์ปีกสามารถสังเคราะห์ซีสเตอีนจากกรดอะมิโนเมทไธโอนีนได้ด้วยกระบวนการเมทาบอลิซึม แต่ไม่สามารถสังเคราะห์กรดอะมิโนเมทไธโอนีนจากซีสเตอีนได้ คือ จะไม่เกิดปฏิกิริยาย้อนกลับ (NRC, 1984) ในขบวนการเปลี่ยนกรดอะมิโนเมทไธโอนีนเป็นซีสเตอีนนั้น จะเกิดวัฏจักรของหมู่เมธิลด้วยปฏิกิริยาการย้ายหมู่ซัลเฟอร์ (Transsulfuration) โดยกรดอะมิโนเมทไธโอนีนจะทำปฏิกิริยากับ ATP ได้อนุพันธ์ของ S-adenosyl methionine (SAM) ซึ่งเป็นรูปที่สามารถให้หมู่เมธิลแก่สารอื่น (Finkelstein, 1990) และเปลี่ยนไปเป็นโฮโมซีสเตอีน ซึ่งสามารถรับหมู่เมธิลจาก N-metyl-tetrahydrofolate (CH_3-FH_4) กลับเป็นกรดอะมิโนเมทไธโอนีนอีก จึงจัดให้โฮโมซีสเตอีนเป็นสารตัวกลางที่สำคัญในเมทาบอลิซึมของกรดอะมิโนเมทไธโอนีน จากนั้นโฮโมซีสเตอีนจะถูกสังเคราะห์ต่อเป็นซีสเตอีน ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่สำคัญในการผลิตขนไก่ ดังภาพที่ 3 (Card and Nesherm, 1972) ดังนั้น ความต้องการกรดอะมิโนเมทไธโอนีนในอาหารจึงต้องรวมความต้องการซีสเตอีนด้วย นอกจากนี้ซีสเตอีนยังเป็นสารตั้งต้นที่จะเปลี่ยนเป็นทอรีน ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของกรดน้ำดีและกลูตาไธโอน

สำหรับเมทาบอลิซึมของการเปลี่ยนกรดอะมิโนเมทไธโอนีนเป็น ซีสเตอีน ซีสตีน และสารอื่นๆ ของปฏิกิริยานี้ต้องมีโคเอ็นไซม์ที่เพียงพอ ซึ่งมีรายงานของ Baker and Czarnecki (1985) ว่าอาหารที่มีปริมาณกรดอะมิโนเมทไธโอนีนเพียงพอ แต่ขาดกรดโฟลิค ไวตามินบี 6 และไวตามินบี 12 จะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนเมทไธโอนีนเป็นโฮโมซีสเตอีนเพิ่มมากขึ้น เป็นสาเหตุทำให้กรดอะมิโนเมทไธโอนีนไม่เพียงพอต่อการสังเคราะห์โปรตีน และการขาดไวตามินบี 6 สัตว์จะมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคไขมันอุดตันในเส้นเลือด เนื่องจากมีปริมาณของโคเลสเตอรอลและโฮโมซีสเตอีนสูง (Takeuchi *et al*., 1991)



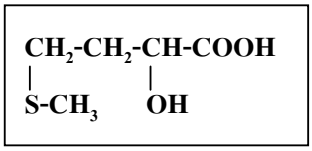
<u>ภาพที่ 3</u> เมทาบอลิซึมของกรดอะมิโนเมทไธโอนีนและซีสเตอีน

ที่มา: Baker (1994)

4. <u>แหล่งของกรดอะมิโนเมทไธโอนีน</u>

โดยทั่วไปสัตว์จะได้รับกรดอะมิโนเมทไธโอนีนจากวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มาจากพืช เช่น กากถั่วเหลือง กากถั่งลิสง ข้าวโพด เป็นต้น ซึ่งมีปริมาณกรดอะมิโนเมทไธโอนีนต่ำกว่าความต้องการ โดยเฉพาะในสัตว์ปีก ดังนั้นการเสริมกรดอะมิโนเมทไธโอนีนสังเคราะห์ในอาหารสัตว์ปีกจึงมีความสำคัญ (Waldroup *et al*., 1981) และเป็นที่นิยมกันอย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ปีกและการผลิตอาหารสัตว์ (Funfstuck *et al*., 1997; Campbell, 2001) โดยรูปแบบที่ใช้เสริมในอาหารสัตว์มี 2 รูปแบบ คือ รูปแบบผงหรือดีแอล-เมทไธโอนีน และของเหลวหรือเมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอค

ดีแอล-เมทไธโอนีนเป็นกรดอะมิโนที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ ในรูปแบบที่บริสุทธิ์มีค่า Bioefficacy เท่ากับ 99 เปอร์เซ็นต์ (Bateman *et al*., 2005) มีไนโตรเจนประมาณ 94 เปอร์เซ็นต์ และค่า pH อยู่ระหว่าง 5.2-6.1 สำหรับเมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคนั้น เป็นผลิตภัณฑ์หลักชนิดหนึ่งที่ใช้ทดแทนดีแอล-เมทไธโอนีนในการเลี้ยงสัตว์โดยเฉพาะในไก่กระทง เพราะมีราคาถูก เพิ่มการกระจายตัวของอาหาร สะดวกในการผสม ลดพลังงานที่ใช้ในการอัดเม็ด และโครงสร้างง่ายต่อการเปลี่ยนเป็น L-Methionine (Elkin and Hester, 1983) ลักษณะโครงสร้างนั้นคล้ายกับดีแอล-เมทไธโอนีน แต่มีหมู่ไฮดรอกซี่ (Hydroxy group, -OH) แทนที่หมู่อะมิโนตรงคาร์บอนตำแหน่งอัลฟ่า ดังแสดงในภาพที่ 4 และมีสูตรทางเคมี คือ 2-Hydroxy-4-methylthiobutanoic acid โดยสัตว์ปีกสามารถเปลี่ยนเมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคเป็นดีแอล-เมทไธโอนีนได้ (Patrick and Schaible, 1980) เมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคถูกสังเคราะห์ขึ้นด้วยขบวนการทางเคมีจากผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียม โดยมี D และ L-MHA ในอัตราส่วน 1:1 ของ DL-MHA (Baker and Boebel, 1981) ซึ่งตัวที่สามารถใช้ได้อาจอยู่ในรูปของเกลือแคลเซียม (มีค่า Bioefficacy เท่ากับ 86 เปอร์เซ็นต์ ของดีแอล-เมทไธโอนีน) หรืออยู่ในรูปกรดอิสระ (มี Bioefficacy เท่ากับ 88 เปอร์เซ็นต์ ของดีแอล-เมทไธโอนีน)

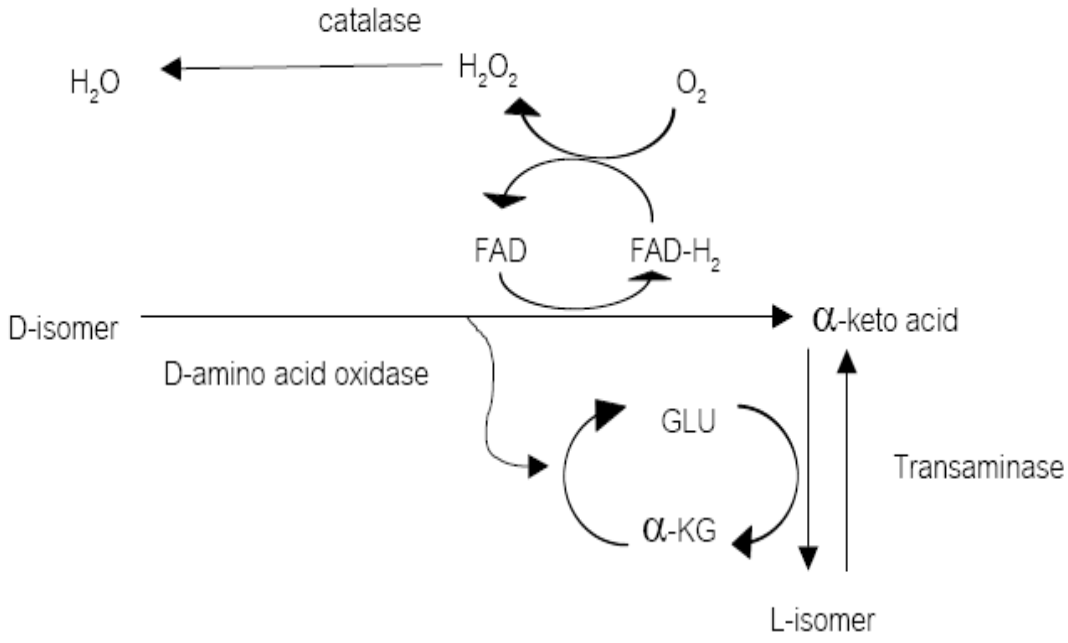


ภาพที่ 4 โครงสร้างทางเคมีของเมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอค

ที่มา: Patrick and Schaible (1980)

5. ขบวนการดูดซึมเมทไธโอนีนไปใช้ประโยชน์

กรดอะมิโนทั่วไปจะมี 2 รูปแบบ คือ D-isomer และ L-isomer ซึ่งรูปแบบที่สัตว์สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการสังเคราะห์โปรตีนได้มากต้องอยู่ในรูป L-isomer (Buttery and D' Mello, 1994) ดังนั้น สัตว์จึงต้องเปลี่ยนให้เป็น L-isomer ดังแสดงในภาพที่ 5



ภาพที่ 5 การเปลี่ยน D-isomer เป็น L-isomer

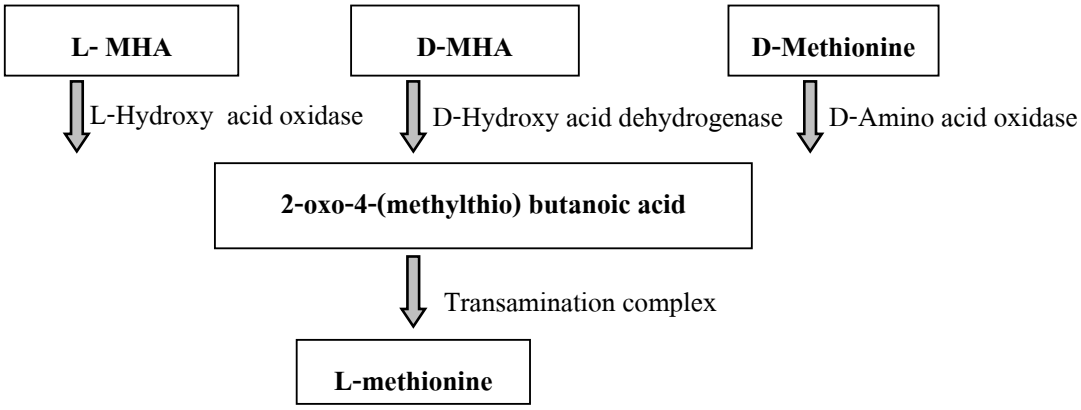
ที่มา: Baker (1994)

Baker (1994) รายงานว่า แม้ D-isomer จะสามารถเปลี่ยนเป็น L-isomer ได้แต่ก็มีปัจจัยที่มาขัดขวางการใช้ประโยชน์ได้ของ D-isomer คือ 1. การดูดซึม D-isomer สู่ระบบทางเดินอาหารมีประสิทธิภาพต่ำกว่า L-isomer 2. การเกิดออกซิเดชั่นของ D-isomer เป็น Keto analogues ไม่มีประสิทธิภาพ 3. การเกิด Transamination ของ Keto analogues เป็น L-isomer ไม่มีประสิทธิภาพ

Knight and Dibner (1984) รายงานว่า ไก่กระทงจะดูดซึมเมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคและดีแอล-เมทไธโอนีนต่างกัน โดยสัตว์ปีกดูดซึมเมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคแบบ Passive transport เกิดขึ้นทุกส่วนของลำไส้ ขณะที่ดีแอล-เมทไธโอนีนดูดซึมแบบ Active transport คือ ต้องอาศัยตัวกลางในการขนส่งและต้องใช้พลังงาน และในสภาพอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมสูง ไก่กระทงจะสามารถดูดซึมเมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคได้ดีกว่าดีแอล-เมทไธโอนีน (Dibner *et al*., 1992) ซึ่งมีรายงานของ Knight *et al*., (1994) ว่าการเสริมเมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคในอาหารไก่กระทงที่เลี้ยงในสภาพอากาศร้อน จะสามารถเพิ่มสมรรถภาพการเจริญเติบโตของไก่กระทงได้ดีกว่าการเสริมดีแอล-เมทไธโอนีน เพราะ D-isomer จะดูดซึมได้ช้ากว่า L-isomer

6. ขบวนการเมทาบอลิซึมของเมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคเปลี่ยนเป็นแอล-เมทไธโอนีน

เมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคมีกระบวนการเมทาบอลิซึมที่สามารถเปลี่ยนเป็นดีแอล-เมทไธโอนีนได้ด้วยการทำงานของตับ โดยมีเอ็นไซม์สองชนิดที่จำเป็นสำหรับปฏิกิริยาออกซิเดชั่นหมู่ไฮดรอกซี่ของ D และ L-MHA ให้เป็น α-Keto analogue คือ 1. Dehydrogenase สำหรับเปลี่ยน D-MHA ในไมโตคอนเดรีย พบปริมาณมากในตับ และ 2. Oxidase สำหรับเปลี่ยนเป็น L-MHA ในเพอร์ออกซิโซม ซึ่งพบมากในตับและไต ดังแสดงในตารางที่ 1 จากนั้น Keto analogue ของเมทไธโอนีนจะเกิด Transamination แล้วจึงเปลี่ยนเป็นแอล-เมทไธโอนีน ซึ่งเป็นปฏิกิริยาของการย้ายหมู่ไนโตรเจนที่ได้จากอะมิโนส่วนเกินของร่างกายสัตว์ ดังแสดงในภาพที่ 6 (Dibner and Knight, 1984) ซึ่งในสัตว์ปีกนั้นกรดอะมิโนกลุ่ม Branched-chain (Valine, Isoleucine และ Leucine) จะเป็นตัวให้หมู่อะมิโนแก่ Keto analogue ซึ่ง D-MHA สามารถเปลี่ยนเป็นแอล-เมทไธโอนีน ได้ดีกว่า L-MHA (ชัยภูมิ, 2548)



ภาพที่ 6 กลไกการเปลี่ยนแปลงเมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคเป็นแอล-เมทไธโอนีน
ที่มา: Dibner and Knight (1984)

ตารางที่ 1 แสดง activity ของเอ็นไซม์ Dehydrogenase ในอวัยวะส่วนต่างๆ ของไก่

อวัยวะ	Activity ของเอ็นไซม์ (10^{-3} IU/g)
ตับ	135.71
ไต	26.77
หลอดอาหาร	7.68
ลำไส้เล็ก	33.11
ลำไส้ใหญ่	15.96
ตับอ่อน	10.89
สมอง	29.16
กล้ามเนื้อแดง	119.54
กล้ามเนื้อขาว	53.99

ที่มา: Knight and Dibner (1984)

นอกจากนี้พบว่าเมื่อระดับความเข้มข้นของเมทไธโอนีนในอาหารต่ำลง D และ L-MHA จะมีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนเป็นแอล-เมทไธโอนีนได้เร็วกว่าดี-เมทไธโอนีน เนื่องจากกลไกการทำงานของเอ็นไซม์ ที่ทำปฏิกิริยากับเมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคมี Affinity สูงกว่า และจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นตามอายุที่มากขึ้น (Dibner and Knight, 1984) แต่ในทางทฤษฎีแล้ว ดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอะนาลอคมี Bioefficacy เท่ากับ 88 เปอร์เซ็นต์ของดีแอล-เมทไธโอนีน (น้ำหนัก/น้ำหนัก) อย่างไรก็ตาม Dibner (2003) รายงานว่า Bioefficacy ของเมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอค ที่ระดับ 88 เปอร์เซ็นต์ของสมรรถภาพการผลิตไม่แตกต่างจากดีแอล-เมทไธโอนีน ซึ่งในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ปีก คิดค่า Bioefficacy ของเมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอค เท่ากับ 75 เปอร์เซ็นต์ของดีแอล-เมทไธโอนีน (Potter, 1984) และมีการศึกษาในสัตว์หลายชนิดพบว่าเมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอค มี Bioefficacy ต่อสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพซากในช่วง 65-90 เปอร์เซ็นต์ของดีแอล-เมทไธโอนีน (Harms and Russell, 1994; Hoehler and Hooge, 2003) โดย Rostagno and Barbosa (1995) รายงานว่าเมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคมีค่า Bioefficacy เมื่อเปรียบเทียบดีแอล-เมทไธโอนีน ประมาณ 72-83 เปอร์เซ็นต์ และ 67-73 เปอร์เซ็นต์ เพื่อการเพิ่มน้ำหนักตัว และประสิทธิภาพการใช้อาหาร ตามลำดับ ซึ่งความแตกต่างดังกล่าวอาจเกิดจากขั้นตอนการเปลี่ยน D-MHA เป็นแอล-เมทไธโอนีนในไมโตคอนเดรีย ถูกขัดขวางการทำงานโดยเอ็นไซม์ Dehydrogenase complex ซึ่งเกิดเมื่อร่างกายขาดพลังงาน โดยโครงคาร์บอนจะถูกนำไปเปลี่ยนเป็นพลังงานในวัฏจักรเครปส์ (Rangel-Lugo and Austic, 1998)

7. <u>ความต้องการเมทไธโอนีนในไก่กระทง</u>

สัดส่วนของกรดอะมิโนเพื่อการดำรงชีพนั้นแตกต่างจากความต้องการเพื่อการเจริญเติบโต โดยปริมาณของกรดอะมิโนที่ต้องการเพื่อการดำรงชีพนั้นค่อนข้างต่ำเมื่อไก่อายุน้อย แต่จะเพิ่มขึ้นเมื่อไก่มีขนาดใหญ่ขึ้น ดังนั้นการรู้ปริมาณความต้องการกรดอะมิโน ทั้งเพื่อการดำรงชีพและการเจริญเติบโต จะทำให้สามารถพัฒนาค่าความต้องการกรดอะมิโนของไก่ที่มีความแตกต่างกันทั้ง พันธุกรรม อายุ อัตราการเจริญเติบโตได้ ซึ่ง Tesserand *et al*. (1999) รายงานว่า ไก่ที่มีความแตกต่างกันไม่ว่าจะเป็นชนิดหรือสายพันธุ์จะมีความสามารถในการใช้ประโยชน์ได้ของกรดอะมิโนและระดับความต้องการกรดอะมิโนแตกต่างกัน ความต้องการกรดอะมิโนจำเป็นของไก่กระทงที่แนะนำโดย NRC (1984)ได้ในแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ความต้องการกรดอะมิโนจำเป็นของไก่กระทง (เปอร์เซ็นต์)

กรดอะมิโน	0-3 สัปดาห์	3-6 สัปดาห์	6-8 สัปดาห์
อาร์จินีน	1.25	1.1	1.00
ไกลซีน + เซอรีน	1.25	1.14	0.97
ฮีสติดีน	0.35	0.32	0.27
ไอโซลูซีน	0.80	0.73	0.62
ลูซีน	1.20	1.09	0.93
ไลซีน	1.10	1.00	0.85
เมทไธโอนีน	0.50	0.38	0.32
เมทไธโอนีน + ซีสตีน	0.90	0.72	0.60
ฟีนิลอะลานีน	0.72	0.65	0.56
ฟีนิลอะลานีน + ไทโรซีน	1.34	1.22	1.04
โปรลีน	0.60	0.55	0.46
ธรีโอนีน	0.80	0.74	0.68
ทริปโตเฟน	0.20	0.18	0.16
วาลีน	0.90	0.82	0.70

ที่มา: NRC (1984)

การศึกษาความต้องการกรดอะมิโนเมทไธโอนีนในไก่กระทงจะคำนึงถึงกรดอะมิโนซีสเตอีนด้วย ซึ่งความต้องการกรดอะมิโนเมทไธโอนีนจะเพิ่มขึ้นตามการเจริญเติบโตที่สูงขึ้น และจะลดลงเมื่ออายุมากขึ้น เนื่องจากสามารถใช้ประโยชน์จากซีสตีนแทนกรดอะมิโนเมทไธโอนีนได้สูงขึ้น แต่การศึกษาความต้องการกรดอะมิโนกลุ่มที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ (Met+Cys) ยังมีความขัดแย้งอยู่ ส่วนหนึ่งอาจเป็นเพราะการศึกษาทั้งหมดนั้นศึกษาเฉพาะความต้องการกรดอะมิโนเมทไธโอนีนและความต้องการ Met+Cys ซึ่งมีข้อแนะนำค่าความต้องการกรดอะมิโนเมทไธโอนีนไว้มากมาย อย่างไรก็ตามได้มีข้อแนะนำระดับความต้องการกรดอะมิโนเมทไธโอนีนที่เหมาะสมกับไก่กระทงในปัจจุบันที่มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ในระยะแรก 0-21 วัน ที่ระดับ 0.54 เปอร์เซ็นต์ และระยะที่ 2 ที่ระดับ 0.48 เปอร์เซ็นต์ (ชัยภูมิ, 2548)

8. <u>ผลของเมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคต่อการผลิตไก่กระทง</u>

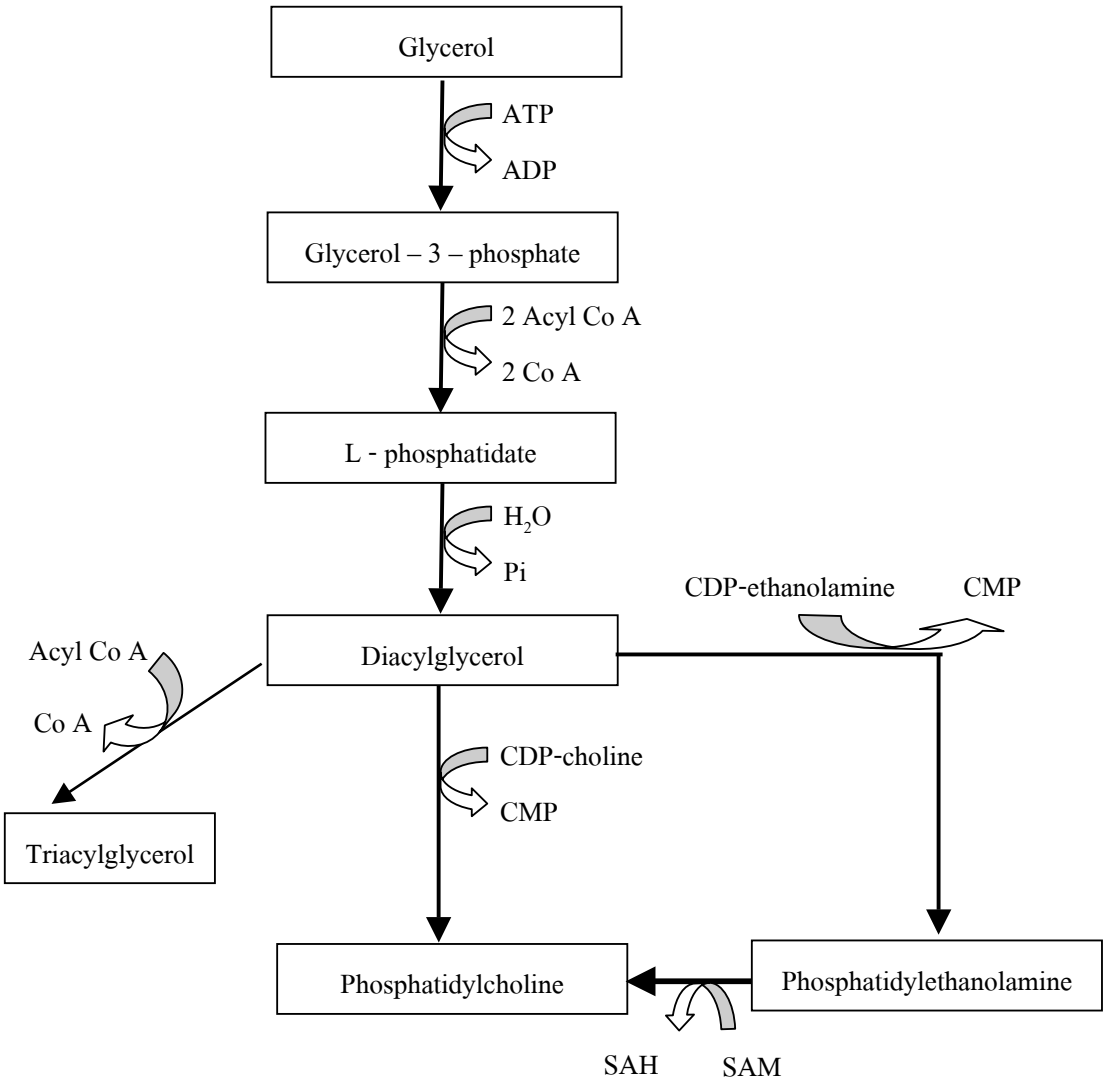
การใช้เมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคทดแทนดีแอล-เมทไธโอนีนเป็นสิ่งที่น่าสนใจสำหรับการผลิตอาหารสัตว์ในปัจจุบัน ซึ่งมีงานวิจัยมากมายที่ทำการศึกษาประสิทธิภาพของแหล่งเมทไธโอนีนสังเคราะห์ทั้งสองเปรียบเทียบกัน พบว่ามีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน (Garlich, 1985 and Damron and Flunker, 1992) และในกรณีที่ระดับกรดอะมิโนต่ำกว่าความต้องการของไก่กระทง การใช้ประโยชน์ได้ของเมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคในรูปกรดอิสระจะมีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้ดีแอล-เมทไธโอนีน (Elkin and Hester, 1983) มีรายงานของ Thomas *et al.,* (1991) ว่าการเสริมเมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคทำให้ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และอัตราการเจริญเติบโตดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับดีแอล-เมทไธโอนีน อย่างไรก็ตามมีรายงานของ van Weerden and Schutte (1982) ว่า กลุ่มไก่กระทงอายุ 0-21 วัน ที่กินอาหารที่เสริมเมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคในรูปเกลือแคลเซียมและรูปกรดอิสระ จะมีประสิทธิภาพ 81 เปอร์เซ็นต์ และ 76 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับดีแอล-เมทไธโอนีน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Rostagno and Barbosa (1995) ว่า ประสิทธิภาพของเมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคอยู่ระหว่าง 70-80 เปอร์เซ็นต์ของดีแอล-เมทไธโอนีน และดีแอล-เมทไธโอนีนสามารถส่งเสริมสมรรถภาพการผลิตมากกว่าเมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอค (Meirelles *et al*., 2003)

นอกจากนี้เมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคที่มีลักษณะของโครงสร้างทางเคมีที่ไม่มีหมู่อะมิโนเป็นส่วนประกอบ และมีลักษณะคล้ายโครงคาร์บอน เป็นอีกแนวทางที่จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการใช้เมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคในอาหารไก่กระทงได้ เพราะสามารถจับกับไนโตรเจนที่อยู่ในรูปแอมโมเนียที่อยู่ในร่างกายมาใช้ประโยชน์สำหรับสร้างเป็นกรดอะมิโนได้ ช่วยลดปัญหาการสูญเสียไนโตรเจนและช่วยรักษาสภาพแวดล้อม โดยลดการขับยูริคออกจากร่างกาย ช่วยทำให้สัตว์มีสุขภาพดี นอกจากนี้ยังช่วยลดพลังงานที่ใช้ในการเปลี่ยนแอมโมเนียเป็นยูริคได้ และการเสริมไนโตรเจนจะทำให้ประสิทธิภาพของเมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอคเทียบเท่าดีแอล-เมทไธโอนีน (Summers *et al*., 1987)

9. <u>หน้าที่ของเมทไธโอนีนต่อเมทาบอลิซึมของไขมัน</u>

Smith *et al*. (1983) ได้ศึกษาการเสริมกรดอะมิโนซีสเตอีนในอาหารหนูทดลอง พบว่า ในตับของหนูทดลองจะมี Activity ของเอ็นไซม์ Pyruvate carboxylase เพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่ Citrate cleavage enzyme activity ลดลง และหนูทดลองที่ได้รับอาหารที่เสริมกรดอะมิโนเมทไธโอนีนจะมี Activity ของเอ็นไซม์ Phosphoenolpyruvate carboxykinase นอกจากนี้ยังพบว่า การเสริมกรดอะมิโนเมทไธโอนีนจะลดขบวนการ Gluconeogenesis และการเสริมกรดอะมิโนซีสเตอีนทำให้ลดการเกิด Lipogenic activity เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่เสริม ดังนั้น อาจเป็นไปได้ว่าหนูทดลองที่กินอาหารที่เสริมกรดอะมิโนซีสเตอีน จะนำโครงคาร์บอนที่ได้ไปสังเคราะห์เป็นไกลโคเจน ในขณะกลุ่มที่เสริมกรดอะมิโนเมทไธโอนีนจะนำไปสังเคราะห์แล้วเก็บไว้ในรูปของไขมันเพื่อเป็นแหล่งพลังงานสำรอง

นอกจากนี้กรดอะมิโนเมทไธโอนีนยังสัมพันธ์กับการสังเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์และฟอสโฟลิปิด โดยมี S-adenosylmethionine (SAM) ที่สังเคราะห์มาจากกรดอะมิโนเมทไธโอนีน ทำหน้าที่ให้หมู่เมธิลแก่ฟอสฟาติดิลเอธานอลามีน เพื่อสังเคราะห์เป็นฟอสฟาติดิลโคลีน ซึ่งจัดเป็นกลไกการสังเคราะห์แบบ Step-wise muthylation of phosphatidylethanolamine (Gurr and Harwood, 1991) ดังแสดงในภาพที่ 7 จึงจัดได้ว่า SAM มีบทบาทสำคัญอย่างมากในการสังเคราะห์ฟอสฟาติดิลโคลีน โดยกลไกการสังเคราะห์ไขมันส่วนใหญ่จะเกิดที่ตับประมาณ 96 เปอร์เซ็นต์ (Goodridge and Ball, 1967) โดยมีรายงานของ Anonymous (2002) และ Banchasak *et al*., (1998) รายงานว่าการเสริม Met + Cys ทำให้ไตรกลีเซอไรด์ในตับลดลง ฟอสโฟลิปิดสูงขึ้น และกรดอะมิโนเมทไธโอนีนยังทำให้การทำงานของเอ็นไซม์ Acetyl-Co A carboxylase และ fatty acid synthetase ในไซโตซอลที่ควบคุมการสังเคราะห์ไขมันในตับไก่ลดลง



<u>ภาพที่ 7</u> การสังเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ และฟอสโฟลิปิด

ที่มา: อาภัสสรา (2543)

10. <u>การเกิด Ascites ในไก่กระทง</u>

สัตว์ปีกในปัจจุบันได้มีการปรับปรุงสายพันธุ์ให้มีการเจริญเติบโตสูงขึ้น และประสิทธิภาพการใช้อาหารดีขึ้น ซึ่งสัตว์ปีกจะมีการปรับปรุงสายพันธุ์ให้มีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ต่อปี (Julian, 1998) สัตว์ปีกที่มีการเจริญเติบโตสูงสุด จะมีการเปลี่ยนแปลงทางด้านสรีระอย่างรุนแรงและเป็นสาเหตุของโรค เช่น Sudden death syndrome, Lameness และ Ascites โดยเฉพาะ Ascites เป็นโรคที่รุนแรงมากขึ้นในอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ปีกทั่วโลก (Silva *et al*., 1988)

ลักษณะความผิดปกติของสัตว์ที่เป็น Ascites จะสะสมของเหลวไว้ในช่องท้อง หรือโรคท้องมาน สาเหตุจะมีความสอดคล้องกับความต้องการออกซิเจนในระดับที่สูงขึ้นของเนื้อเยื่อ ซึ่งความไม่สมดุลระหว่างระบบหายใจและความต้องการออกซิเจน อาจนำไปสู่ภาวะขาดออกซิเจนในทุกส่วนของร่างกาย (Systemic hypoxia) (Wideman and Kirby, 1995) โดยส่วนใหญ่จะเกิดในไก่กระทงเพศผู้ที่มีอัตราการเจริญเติบโตรวดเร็ว ช่วงอายุประมาณ 4 สัปดาห์ขึ้นไป จึงจัด Ascites เป็นโรคผิดปกติทางเมทาบอลิซึม (Peckham, 1978; Maxwell *et al*., 1986 and Wilson *et al*., 1988) ในสภาวะอากาศเย็นจะมีภาวะการเกิด Ascites สูงเพราะมี Metabolic rate สูงขึ้นเพื่อรักษาอุณหภูมิร่างกายให้ปกติ (Hernandez, 1984; Maxwell *et al*., 1986; Dale and Villacres, 1988) ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิด Ascites ได้ แต่สภาวะที่อุณหภูมิสูงก็เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิด Ascites ได้เช่นกันเพราะออกซิเจนในอากาศมีแนวโน้มลดลง

ปัจจัยหลายอย่างที่ทำให้เกิด Ascites เช่น สิ่งแวดล้อมของโรงเรือน (ระดับอุณหภูมิ ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์และออกซิเจน) การเพิ่มขึ้นของอัตราการเจริญเติบโต ปริมาณพลังงานที่ใช้ดำรงชีพสูงขึ้น (Basal metabolic rate) ปริมาณการกินอาหารสูงขึ้น และรูปแบบอาหาร ซึ่งเป็นปัจจัยที่ทำให้เกิด Ascites ในไก่กระทง (Dale, 1990; Odom *et al*., 1992 and BölÜkbasi *et al*., 2005) โดยพบว่าไก่กระทงที่กินอาหารอัดเม็ดมีความถี่ในการเกิด Ascites สูงกว่าไก่กระทงที่กินอาหารผง (Silva *et al*., 1988) ซึ่งสอดคล้องกับ BölÜkbasi *et al*. (2005) ซึ่งรายงานว่าไก่กระทงเพศผู้ที่ได้รับอาหารชนิดผงจะช่วยลดการเกิด Ascites ได้ สำหรับสาเหตุทางสรีระจะเกิดจากปัจจัยต่างๆ ที่ได้กล่าวมาแล้วที่จะส่งเสริม และพัฒนาให้เกิดโรค Ascites และโรคหัวใจเลือดคั่ง (Congestive heart failure)

จากปัจจัยดังกล่าวทำให้ไก่กระทงต้องการออกซิเจนสูงขึ้น และปริมาณเลือดที่หัวใจขับออกมาได้ใน 1 นาที เพิ่มขึ้น (Cardiac output) ทำให้หัวใจห้องล่างขวา (Right ventricle: RV) ขยายใหญ่ขึ้นถึง

2 เท่า (Julian *et al*., 1987) ซึ่งสัดส่วนน้ำหนักของหัวใจห้องล่างขวาต่อหัวใจทั้งหมด (RV:TV) สัมพันธ์ในเชิงปริมาณกับแรงดันเลือดที่เพิ่มขึ้นของหัวใจห้องล่างขวา จึงสรุปว่าหัวใจห้องล่างขวาที่ใหญ่ขึ้นเพราะแรงดันเลือดสูงขึ้น อัตราการไหลของเลือดเพิ่มขึ้น และปริมาณของเลือดในหัวใจห้องล่างขวาเพิ่มขึ้น (McGovern *et al*., 1999) นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของค่า Haematocrit และ Erythrocyte ทำให้เลือดมีความหนืดมากขึ้น (Witzel *et al*., 1990) ซึ่ง Maxwell *et al*., 1986 ได้แสดงรายละเอียดของปัจจัยทางด้านสรีระที่เป็นตัวกำหนดว่าไก่กระทงมีความเสี่ยงต่อการเกิด Ascites ดังตารางที่ 3 นอกจากนี้ไก่กระทงที่เป็น Ascites จะมีปริมาณของฮอร์โมน Thyroxin (T_4) และ T_3 ลดลง (Luger *et al*., 2001)

การป้องกันการเกิด Ascites ในระยะยาวนั้นได้มีการปรับปรุงพันธุ์ไก่กระทงที่สามารถต้านทานการเกิด Ascites ได้ (Shlosberg *et al*., 1991) แต่ในช่วงระยะสั้นนี้ได้พยายามป้องกันโดย จัดให้มีการระบายอากาศที่เพียงพอ เพื่อลด Hypoxia air condition

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบปัจจัยทางสรีระของไก่กระทงที่ปกติและเกิดไก่ที่เกิด ascites ที่อายุ 35 วัน

รายละเอียด	ปกติ	Ascites
Body weight (g)	1,390	960
Heart weight (g)	9.5	9.3
Heart weight (%BW)	0.7	1.0
Hemoglobin (g/100ml)	9.3	11.6
PCV (%)	30.0	38.0
RBC (10^6/mm^3)	2.6	3.2
WBC (10^3/mm^3)	16.1	20.5
Heterophils (%WBC)	17.8	32.3
Lymphocytes (%WBC)	71.0	52.6

ที่มา: ดัดแปลงจาก Maxwell *et al*. (1986)

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองที่ 1

ศึกษาผลของดีแอล – เมทไธโอนีนและดีแอล - เมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอค ต่อสมรรถภาพการผลิต ลักษณะการเกิด Ascites และความเข้มข้นของสารเมแทบอไลท์ในเลือดไก่กระทงเพศผู้ที่เลี้ยงบนพื้น

อุปกรณ์

การทดลองใช้ไก่กระทงเพศผู้สายพันธุ์ทางการค้า (Ross 208) อายุ 0 วัน โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

1. สัตว์ทดลอง

การทดลองใช้ไก่กระทงเพศผู้สายพันธุ์ทางการค้า (Ross 208) อายุ 0 วัน น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 38.60 $\pm$ 0.13 กรัม ใช้ไก่จำนวน 450 ตัว แบ่งเป็น 3 กลุ่ม ๆ ละ 6 ซ้ำ ๆ ละ 25 ตัว เพื่อศึกษาสมรรถภาพการผลิตและลักษณะการเกิด Ascites โดยเลี้ยงไก่กระทงภายในโรงเรือนระบบปิด ให้อาหารและน้ำอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) ใช้ระยะเวลาทั้งสิ้น 42 วัน

2. โรงเรือน

โรงเรือนที่ใช้ในการทดลองเป็นระบบปิด ควบคุมสภาพแวดล้อมในโรงเรือนด้วยระบบระเหยไอน้ำ (Evaporative cooling system) แบบ Negative pressure system ใช้พัดลมระบายอากาศขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 48 นิ้ว จำนวน 4 ตัว ติดอยู่ท้ายโรงเรือน มีระบบการระบายอากาศแบบอุโมงค์ลม (Tunnel ventilation system) และใช้ผ้าม่านสีดำปิดด้านข้างโรงเรือนเพื่อลดรังสีความร้อนภายนอกเข้าสู่โรงเรือน ภายในมีคอกขนาดกว้าง 1 เมตร ยาว 2 เมตร สูง 1 เมตร เลี้ยงไก่กระทงจำนวน 25 ตัว/คอก พื้นที่ในการเลี้ยง 800 ตารางเซนติเมตร/ตัว ใช้แกลบเป็นวัสดุรองพื้น ให้อาหารโดยใช้ถังแขวน และมีระบบการให้น้ำแบบหัวหยดอัตโนมัติ (Nipple)

3. อาหารทดลอง

การทดลองแบ่งไก่กระทงเป็น 2 ระยะ แต่ละระยะได้รับสารอาหารที่ต่างกัน โดยไก่กระทงระยะแรก 0-21 วัน (Starter) คำนวณให้อาหารทดลองมีโปรตีน (Crude protein) 22 เปอร์เซ็นต์ พลังงาน 3,100 kcal ME/kg และในไก่กระทงระยะรุ่น 22-42 วัน (Grower) คำนวณให้มีโปรตีน 20 เปอร์เซ็นต์ และพลังงาน 3,200 kcal ME/kg ซึ่งไก่กระทงแต่ละระยะกินอาหารที่ต่างกัน 3 สูตร

สูตรที่ 1 ไม่เสริมเมทไธโอนีนสังเคราะห์
สูตรที่ 2 เสริมเมทไธโอนีนสังเคราะห์รูปแบบผง (DL - Met)
สูตรที่ 3 เสริมเมทไธโอนีนอะนาล็อคสังเคราะห์รูปของเหลว (DL - MHA)

การประกอบสูตรอาหารใช้ข้าวโพดและกากถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบหลัก โดยวิเคราะห์หาสัดส่วนของกรดอะมิโนและระดับโปรตีน (Crude protein) ดังแสดงในตารางที่ 4 ก่อนนำมาผสมอาหารพื้นฐาน (Basal diet) ด้วยเครื่องผสมอาหารแบบถังนอนขนาด 500 กิโลกรัม นาน 10 นาที ดังแสดงในตารางที่ 5 สุ่มตัวอย่างอาหารพื้นฐานเพื่อวิเคราะห์สัดส่วนของกรดอะมิโนโดยเครื่อง Amino acid analyzer ซึ่งแสดงในตารางที่ 6 และวิเคราะห์ระดับโปรตีน (Crude protein)โดยวิธี Proximate analysis ตามวิธีของ AOAC (1990) ก่อนเติมกรดอะมิโนเมทไธนีนสังเคราะห์ในอาหารพื้นฐาน

เสริมเมทไธนีนสังเคราะห์ (DL-Met และ DL-MHA)ในอาหารพื้นฐานตามความต้องการของสายพันธุ์ Ross 208 โดยกำหนดให้ DL-MHA มีค่า Bioefficacy 80 เปอร์เซ็นต์ ของ DL-Met (1.25 เท่า) (Bunchasak and Kaewarun, 2006) และต้องเติมแป้งข้าวโพดเพื่อปรับปริมาณอาหารพื้นฐานในแต่ละกลุ่มให้เท่ากัน ดังแสดงในตารางที่ 7 จากนั้นนำไปอัดเม็ด (Pellet) ขนาด 3 มิลลิเมตรแล้วบรรจุในถุงอาหารขนาด 20 กิโลกรัม สุ่มตัวอย่างอาหารอีกครั้ง เพื่อวิเคราะห์ความเป็นกรด–ด่าง และองค์ประกอบของโภชนะด้วยวิธีของ AOAC (1990) ดัดแปลงโดย อังคณา และดวงสมร (2523) ดังตารางที่ 8

ตารางที่ 4 สัดส่วนของกรดอะมิโนและโปรตีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์จากการวิเคราะห์

ส่วนประกอบ (เปอร์เซ็นต์)	ระยะแรก (0-21 วัน)		ระยะรุ่น (22-42 วัน)	
	ข้าวโพด	กากถั่วเหลือง	ข้าวโพด	กากถั่วเหลือง
โปรตีน	7.15	43.50	7.17	46.50
ซีสเตอีน	0.16	0.76	0.16	0.73
เมทไธโอนีน	0.15	0.66	0.15	0.63
เมทไธโอนีน + ซีสเตอีน*	0.31	1.42	0.31	1.36
แอสปาราจีน	0.46	5.26	0.460	5.41
ทรีโอนีน	0.23	1.85	0.23	1.96
ซีรีน	0.29	2.42	0.29	2.50
กลูตามีน	1.29	9.01	1.29	8.86
ไกลซีน	0.30	2.00	0.30	2.21
อะลานีน	0.51	1.95	0.51	2.05
วาลีน	0.35	2.21	0.35	2.34
ไอโซลูซีน	0.24	2.14	0.24	2.37
ลูซีน	0.69	3.56	0.69	3.65
ไทโรซีน	0.19	1.86	0.19	1.63
เฟนีลอะลานีน	0.24	2.28	0.24	2.63
ฮิสติดีน	0.21	1.21	0.21	1.34
ไลซีน	0.25	2.79	0.25	2.66
อาร์จินีน	0.29	3.39	0.29	3.920
โปรลีน	0.55	2.31	0.55	2.48

ตารางที่ 5 ส่วนประกอบของวัตถุดิบอาหารพื้นฐานที่ใช้ในการทดลองระยะแรก และระยะรุ่น

ส่วนประกอบ (เปอร์เซ็นต์)	ระยะแรก (0-21 วัน)	ระยะรุ่น (22-42 วัน)
ข้าวโพด 7.15 %	46.42	54.62
กากถั่วเหลือง 43.5 %	42.79	34.22
น้ำมันถั่วเหลือง	6.39	6.92
แอล-ไลซีน	0.07	0.20
แอล - ธรีโอนีน	0.02	0.02
โมโนไดแคลเซียมฟอสเฟต 15/21	1.93	1.55
โคลีนคลอไรด์ 60%	0.10	0.27
หินฝุ่น 38.67%	1.49	1.45
โซเดียมไบคาร์บอเนต 27%	0.20	0.20
เกลือ	0.24	0.20
พรีมิกซ์ไก่กระทง*	0.25	0.25
Sacox 120**	0.05	0.05
MTB100***	0.05	0.05
รวม (กิโลกรัม)	100	100

*** ส่วนประกอบ 1 กิโลกรัม:** วิตามิน เอ 4.00 ล้านหน่วยสากล, วิตามิน ดี 3 0.50 ล้านหน่วยสากล, วิตามิน อี 4.48 กรัม, วิตามิน เค 3 0.68 กรัม, วิตามิน บี1 0.52 กรัม, วิตามิน บี 2 0.50 กรัม, วิตามิน บี6 0.68 กรัม, วิตามิน บี12 5.60 กรัม, กรดโฟลิค 0.17 กรัม, กรดนิโคทินิก 6.80 กรัม, กรดแพนโททีนิก 3.36 กรัม, ไบโอติน 0.014 กรัม, โคลีน คลอไรด์ 200.00 กรัม, แมงกานีส 26.40 กรัม, เหล็ก 17.20 กรัม, สังกะสี 26.40 กรัม, ทองแดง 3.20 กรัม, ไอโอดีน 0.32 กรัม, ซิลีเนียม 0.03 กรัม, สารถนอมคุณภาพอาหารสัตว์รวม 4.80 กรัม เติมสื่อจนครบ 1 กิโลกรัม

**** Sacox 120** คือ Salinomycin เป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการป้องกันการเกิดโรคบิด (coccidiostate)

***** MTB100** คือ ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการป้องกันเชื้อรา (mycotoxin binder)

ตารางที่ 6 สัดส่วนของกรดอะมิโนในอาหารพื้นฐาน จากการคำนวณและการวิเคราะห์ของไก่กระทง

ส่วนประกอบ (เปอร์เซ็นต์)	ระยะแรก (0-21 วัน)		ระยะรุ่น (22-42 วัน)	
	คำนวณ	วิเคราะห์	คำนวณ	วิเคราะห์
ซีสเตอีน	0.40	0.38	0.34	0.28
เมทไธโอนีน	0.35	0.34	0.30	0.27
เมทไธโอนีน + ซีสเตอีน*	0.75	0.72	0.64	0.55
แอสปาราจีน	2.46	2.35	2.10	2.07
ทรีโอนีน	0.88	0.83	0.80	0.79
ซีรีน	1.17	0.95	1.01	0.97
กลูตามีน	4.45	4.18	3.74	3.79
ไกลซีน	1.00	0.96	0.92	0.86
อะลานีน	1.07	1.07	0.98	0.96
วาลีน	1.11	0.99	0.99	0.89
ไอโซลูซีน	1.03	0.90	0.94	0.81
ลูซีน	1.84	1.79	1.63	1.66
ไทโรซีน	0.88	0.71	0.66	0.75
เฟนีลอะลานีน	1.09	1.06	1.03	1.07
ฮิสติดีน	0.62	0.66	0.57	0.59
ไลซีน	1.35	1.32	1.247	1.27
อาร์จินีน	1.59	1.44	1.50	1.29
โปรลีน	1.24	1.30	1.15	1.14

หมายเหตุ * เมทไธโอนีน + ซีสเตอีน คือ ปริมาณ Total sulfur amino acid (TSAA) ในอาหาร

ตารางที่ 7 ปริมาณการเสริมกรดอะมิโนเมทไธโอนีนสังเคราะห์ในอาหารไก่กระทงเพศผู้

	ระดับเมทไธโอนีน(%)	ปริมาณ TSAA (%)	ปริมาณแป้งข้าวโพด
ระยะแรก (0-21 วัน)			
Basal diet	0	0.75	3.67
DL-Met	0.28	1.03	0.89
DL-MHA	0.35	1.10	0.19
ระยะรุ่น (22-42 วัน)			
Basal diet	0	0.64	3.50
DL-Met	0.26	0.90	0.85
DL-MHA	0.32	0.96	0.19

หมายเหตุ * คำนวณให้ MHA มี bioefficacy ที่ระดับ 80 เปอร์เซ็นต์ของ DL-Met (1.25 เท่า, น้ำหนัก/น้ำหนัก)

ตารางที่ 8 องค์ประกอบทางโภชนะของอาหารที่ใช้ทดลองจากการคำนวณและการวิเคราะห์

องค์ประกอบ	ระยะแรก (0-21 วัน)		ระยะรุ่น (22-42 วัน)	
	คำนวณ	วิเคราะห์[1]	คำนวณ	วิเคราะห์[1]
พลังงาน (kcal ME/kg)	3100	-	3200	-
	---------- เปอร์เซ็นต์ ----------			
ความชื้น	-	6.74	-	11.08
วัตถุแห้ง	-	93.26	-	88.92
ไนโตรเจน	3.52	3.57	3.20	3.26
โปรตีน	22	22.32	20	20.40
ไขมัน	-	9.97	-	8.11
เถ้า	-	7.65	-	6.04
แคลเซียม	0.998	1.61	0.903	1.60
ฟอสฟอรัสทั้งหมด	0.80	0.99	0.69	0.80
ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้	0.56	-	0.46	-

หมายเหตุ [1]วิเคราะห์โภชนะ คือ ความชื้น ไนโตรเจน โปรตีน ไขมัน และเถ้า โดยวิธี Proximate analysis ตามวิธีของ AOAC (1990) และวิเคราะห์ปริมาณ แคลเซียม ฟอสฟอรัส ตามวิธีของ AOAC (1990) ดัดแปลงโดย อังคณา และดวงสมร (2523)

<u>วิธีการทดลอง</u>

1. แผนการทดลอง

ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design: CRD) โดยพิจารณาปัจจัยหลัก คือ แหล่งของกรดอะมิโนเมทไธโอนีนที่แตกต่างกัน 2 แหล่ง คือ DL-Met และ DL–MHA การทดลองใช้ไก่กระทง 450 ตัว แบ่งไก่กระทงออกเป็น 3 กลุ่ม ๆ ละ 6 ซ้ำๆ ละ 25 ตัว เพื่อทดสอบอิทธิพลของกรดอะมิโนเมทไธโอนีน

2. การจัดการเลี้ยงดู

ไก่กระทงถูกเลี้ยงในคอกที่พื้นเป็นคอนกรีตและใช้แกลบเป็นวัสดุรองพื้น ความหนาแน่น 800 ตารางเซนติเมตร/ตัว ภายในโรงเรือนระบบปิดที่ควบคุมสภาพแวดล้อมด้วยระบบไอน้ำ (Evaporative cooling system) แบบ Negative pressure system ระบบการระบายอากาศเป็นแบบอุโมงค์ลม (Tunnel ventilation system) และใช้ผ้าม่านสีดำปิดด้านข้างโรงเรือนเพื่อลดรังสีความร้อนภายนอกเข้าสู่โรงเรือน ภายในโรงเรือนมีการควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ที่ประมาณ 27 – 30 องศาเซลเซียล และ 75 – 80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับโดยไก่กระทงได้รับอาหารและน้ำอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) ด้วยถังแขวนให้อาหารที่มีการชั่งอาหารเข้า – ออกในทุกสัปดาห์ และมีระบบการให้น้ำแบบหัวหยดอัตโนมัติ (Nipple) โดยใช้ระยะเวลาในการเลี้ยง 42 วัน

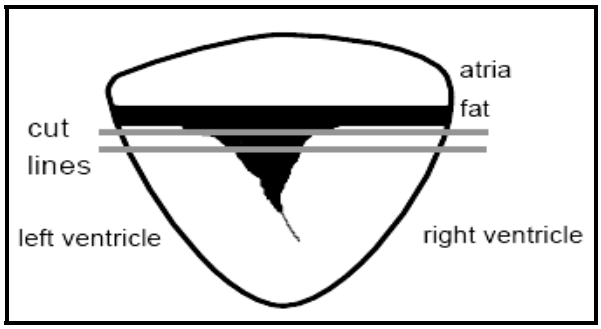
3. การบันทึกผลการทดลองและการเก็บตัวอย่าง

การบันทึกผลการทดลองแบ่งเป็น 2 ระยะ ๆ ละ 21 วัน คือ ระยะแรกที่อายุ 0 - 21 วัน (Starter) และระยะรุ่น 22 - 42 วัน (Grower) ตามลำดับ โดยแต่ละระยะมีการบันทึกข้อมูลน้ำหนักตัวไก่เมื่อเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลอง บันทึกปริมาณการกินอาหารในทุกสัปดาห์ บันทึกจำนวนไก่ตายและอุณหภูมิภายในโรงเรือนทุกวัน เพื่อใช้พิจารณาสมรรถภาพการเจริญเติบโตของไก่กระทง

เมื่อไก่กระทงอายุครบ 21 และ 42 วัน สุ่มไก่กระทงมาทั้งหมด 24 ตัว (กลุ่มละ 8 ตัว) เพื่ออดอาหารก่อนเจาะเลือดประมาณ 12 ชั่วโมง นำเลือดที่เจาะได้ไปหาค่าอัดแน่นของเม็ดเลือดแดง

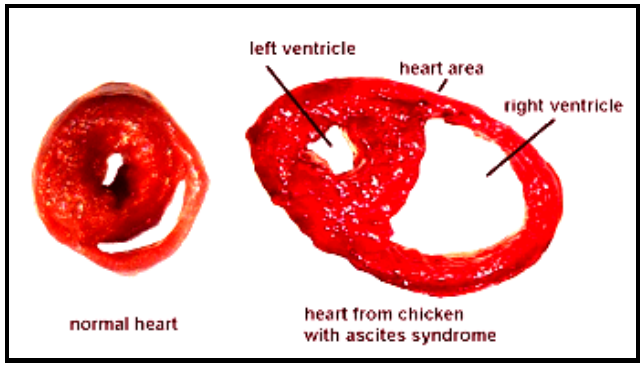
(Pack cell volume:PCV or Haematocrit) โดยใช้ Heparinized capillary tube จำนวน 3 หลอด/ตัว จุ่มหลอด capillary ลงในหลอดใส่เลือดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวจนเกือบเต็มหลอด capillary แล้วนำไปปั่นด้วยเครื่อง Hematocrit centrifuge ความเร็ว 15,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที นำมาอ่านค่าด้วย Microhaematocrit reader (อุคเดช, 2548) จากนั้นนำเลือดที่เหลือในหลอดไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วแยกพลาสม่า และซีรั่ม (เก็บที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส) เพื่อวิเคราะห์หาระดับความเข้มข้นของสารเมแทบอไลท์ในเลือดต่อไป

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง นำไก่กระทงมาศึกษาคุณภาพซากที่อายุ 42 วัน ใช้ไก่ซ้ำละ 3 ตัว จำนวนรวม 54 ตัว ซึ่งมีน้ำหนักตัวใกล้เคียงน้ำหนักเฉลี่ยของกลุ่ม ชั่งน้ำหนักไก่มีชีวิตแล้วฆ่าไก่ด้วยวิธี asphyxiation โดยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ประมาณ 1.5-2.0 นาที จากนั้นชำแหละแล้วนำซากไก่มาแยกชิ้นส่วนต่าง ๆ เพื่อชั่งน้ำหนักเป็นกรัมและคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์โดยเทียบกับน้ำหนักมีชีวิต จากนั้นนำอวัยวะภายในมาแยกชิ้นส่วนเพื่อชั่งน้ำหนักเช่นกัน เก็บตัวอย่างหัวใจไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาลักษณะภาพตัดขวางของหัวใจโดยการทำ Cross section ด้วยใบเลื่อยตัดด้านขวางของหัวใจตรงตำแหน่งด้านล่างของ Tricuspid และ Bicuspid valves และตัดอีกครั้งให้ได้แผ่นบางๆประมาณ 4 มิลลิเมตร (McGovern *et al.,* 2001) ดังแสดงในภาพที่ 8 จากนั้นหาพื้นที่และความหนาของห้องหัวใจ ดังแสดงในภาพที่ 9



<u>ภาพที่ 8</u> ตำแหน่งภาพตัดขวางของหัวใจ

ที่มา: McGovern *et al.* (2001)



<u>ภาพที่ 9</u> แสดงภาพตัดขวางของหัวใจห้องล่างขวา

ที่มา: McGovern *et al.* (2001)

4. การวิเคราะห์ทางเคมี

การวิเคราะห์ส่วนประกอบของโภชนะในวัตถุดิบ อาหารพื้นฐาน และอาหารทดลอง

สุ่มวัตถุดิบอาหารก่อนผสมและตัวอย่างอาหารพื้นฐานที่ผสมแล้วเพื่อวิเคราะห์หาโปรตีนและสัดส่วนของกรดอะมิโนโดยเครื่อง Amino acid analyzer ดังตารางที่ 4 และ 6 การสุ่มวัตถุดิบอาหารทดลองเพื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณโภชนะที่มีอยู่ก่อนนำมาคำนวณสูตรอาหาร ส่วนการสุ่มอาหารที่ใช้ทดลองจะสุ่มหลังจากผสมอาหารเสร็จและสุ่มที่ถังอาหารหน้าคอกทดลอง แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส เมื่อสิ้นสุดการทดลองจึงนำอาหารทดลองที่สุ่มทั้งหมดมารวมกันเพื่อสุ่มตัวอย่างไปวิเคราะห์ความเป็นกรด - ด่าง ของอาหารโดยเจือจางด้วยน้ำกลั่นที่ไม่มีประจุ (Deionize) 3 เท่า วัดค่าโดยเครื่อง pH meter (ราชาวดี, 2546) และวิเคราะห์องค์ประกอบของโภชนะต่าง ๆ คือ ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า โดยวิธี Proximate Analysis ตามวิธีของ AOAC (1990) และวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม ฟอสฟอรัส ตามวิธีของ AOAC (1990) ดัดแปลงโดย อังคณา และดวงสมร (2523)

การวิเคราะห์หาระดับความเข้มข้นของสารเมแทบอไลท์ในเลือดไก่กระทง

1. วิเคราะห์ปริมาณกรดยูริคในพลาสม่า โดยวิธีการตกตะกอนด้วย Phosphotungstate - Carbonate Method อ่านค่าด้วยเครื่อง Spectrophotometer โดยใช้ชุดทดสอบของบริษัท Life science Dynamics of Arnaparn Co., LTD

2. วิเคราะห์หาปริมาณฮอร์โมน Triiodothyronine (T_3) ในซีรั่ม โดยวัด Radioactivity ด้วยเครื่อง Gamma Counter ใช้ชุดทดสอบของบริษัท Diagnostic Products Corporation

3. วิเคราะห์ปริมาณไตรกลีเซอไรด์ในซีรั่ม ด้วยวิธี Enzymatic Colorimetric Method ด้วยเครื่อง Spectrophotometer โดยใช้ชุดทดสอบของบริษัท Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH

4. วิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระในซีรั่ม (Nonesterified Fatty Acid: NEFA) โดยวิธี Salting - out technique for colorimetric ตามวิธีการของ Smith (1975) โดยใช้กรดไขมันโอลิอิค (Oleic acid) เป็นสารเปรียบเทียบมาตรฐาน แล้วอ่านค่าด้วยเครื่อง Spectrophotometer

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of Variance: ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของกลุ่มโดยวิธีของ Duncan' new multiple range test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS (SAS, 1988) โดยมีแบบหุ่นทางสถิติคือ

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

Y_{ij} = ค่าทำนาย

μ = ค่าเฉลี่ยร่วม

A_i = อิทธิพลของแหล่งเมทไธโอนีนสังเคราะห์

โดย i = กลุ่มที่ 1 (Basal diet)

กลุ่มที่ 2 (DL - Met)

กลุ่มที่ 3 (DL - MHA)

ε_{ij} = ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง โดย $\varepsilon_{ij} \sim NID(0, \delta^2)$

การทดลองที่ 2

ศึกษาผลของดีแอล-เมทไธโอนีนและดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอค ต่อความเป็นกรด – ด่าง การสะสมแร่ธาตุในร่างกาย องค์ประกอบทางเคมีและไตรกลีเซอไรด์ในตับของในไก่กระทงเพศผู้ที่เลี้ยงบนกรง Metabolic

อุปกรณ์

1. สัตว์ทดลอง

การทดลองใช้ไก่กระทงจำนวน 150 ตัว แบ่งเป็น 3 กลุ่ม ๆ ละ 50 ตัว เลี้ยงไว้บนพื้นเพื่อเตรียมพร้อมก่อนนำขึ้นกรง Metabolic โดยให้อาหารและน้ำอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) จากนั้นไก่ที่เลี้ยงบนพื้นถูกนำขึ้นกรง Metabolic 2 ครั้ง ระยะแรกที่อายุ 14 - 21 วัน และ ระยะรุ่นอายุ 35- 42 วัน ใช้เวลา 7 วัน/ครั้ง โดยสุ่มไก่ที่มีน้ำหนักใกล้ค่าเฉลี่ยของกลุ่มมากลุ่มละ 8 ตัว ทั้งหมด 24 ตัว เลี้ยงในกรง Metabolic กรงละ 1 ตัว แบ่งเป็น 8 ซ้ำ/กลุ่ม เลี้ยงไก่ในโรงเรือนระบบปิดควบคุมสภาพแวดล้อมด้วยเครื่องปรับอากาศที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียล และได้รับอาหารและน้ำอย่างเต็มที่ (*ad libitum*)

2. โรงเรือน

โรงเรือนที่ใช้เป็นแบบระบบปิดควบคุมสภาพแวดล้อมด้วยเครื่องปรับอากาศ ภายในมีกรง Metabolic cage ขนาดกรงกว้าง 35 เซนติเมตร ยาว 45 เซนติเมตร สูง 40 เซนติเมตร เลี้ยงไก่กระทง 1 ตัว/กรง พื้นที่ในการเลี้ยง 1,575 ตารางเซนติเมตร/ตัว ระบบการให้อาหารแบบรางอาหารขนาดกว้าง 10 เซนติเมตร ยาว 30 เซนติเมตร และระบบการให้น้ำแบบหัวหยดอัตโนมัติ (Nipple)

3. อาหารทดลอง

ใช้สูตรอาหารเดียวกับการทดลองที่ 1

<u>วิธีการทดลอง</u>

1. แผนการทดลอง

ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design: CRD) โดยพิจารณาปัจจัยหลัก คือ แหล่งของกรดอะมิโนเมทไธโอนีนที่แตกต่างกัน 2 แหล่ง คือ DL-Met และ DL–MHA การทดลองใช้ไก่กระทง 24 ตัว แบ่งไก่กระทงออกเป็น 3 กลุ่ม ๆ ละ 8 ซ้ำๆ ละ 1 ตัว เพื่อทดสอบอิทธิพลของกรดอะมิโนเมทไธโอนีน

2. การจัดการเลี้ยงดู

สุ่มไก่กระทงจากไก่ชุดที่ 2 ในการทดลองที่ 1 ที่เลี้ยงบนพื้นที่รองด้วยแกลบ (Floor pen) ในโรงเรือนระบบปิด เพื่อเตรียมขึ้นกรง Metabolic cage ขนาดกว้าง 35 เซนติเมตร ยาว 45 เซนติเมตร สูง 40 เซนติเมตร พื้นที่ในการเลี้ยง 1575 ตารางเซนติเมตร/ตัว ซึ่งจะมีการปรับสภาพไก่ที่อยู่ในกรงก่อนเริ่มทดลอง 2 วัน ภายใต้โรงเรือนแบบปิดควบคุมสภาพแวดล้อมด้วยเครื่องปรับอากาศ ที่อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียล ไก่กระทงจะขึ้นกรง Metabolic cage 2 ครั้ง ที่อายุ 14 - 21 วัน และ 35 - 42 วัน โดยสุ่มไก่ที่มีน้ำหนักใกล้ค่าเฉลี่ยของกลุ่มออกมากลุ่มละ 8 ตัว เลี้ยงในกรง Metabolic cage กรงละ 1 ตัว ทั้งหมด 24 ตัว/ครั้ง โดยไก่กระทงได้รับอาหารและน้ำอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) ใช้ระบบการให้อาหารแบบรางอาหารมีการชั่งอาหารเข้า – ออกทุกวัน และมีระบบการให้น้ำแบบหัวหยดอัตโนมัติ (Nipple) โดยใช้ระยะเวลาในการเลี้ยง 7 วัน

3. การบันทึกผลการทดลองและการเก็บตัวอย่าง

การบันทึกผลการทดลองแบ่งเป็น 2 ระยะ ๆ ละ 7 วัน คือ ระยะแรกที่อายุ 14 - 21 วัน (Starter) และระยะรุ่น 35 - 42 วัน (Grower) ตามลำดับ โดยแต่ละระยะมีการบันทึกข้อมูลน้ำหนักตัวไก่เมื่อเริ่มต้น (ก่อนขึ้นกรง) และสิ้นสุดการทดลอง (หลังออกจากกรง) บันทึกอุณหภูมิโรงเรือน ปริมาณอาหารที่ไก่กิน และน้ำหนักของมูลที่ขับออกทุกวัน เพื่อใช้พิจารณาสมรรถภาพการเจริญเติบโตและการใช้ประโยชน์ได้ของสารอาหารในไก่กระทง

เก็บมูลทั้งหมดที่ไก่ขับออกมาวันละครั้ง เพื่อวิเคราะห์สภาวะความเป็นกรด – ด่าง และส่วนประกอบของโภชนะต่าง ๆ คือ ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า โดยวิธี Proximate Analysis ตามวิธีของ AOAC (1990) และวิเคราะห์ปริมาณ แคลเซียม ฟอสฟอรัส ตามวิธีของ AOAC (1990) ดัดแปลงโดย อังคณา และดวงสมร (2523)

เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่อายุครบ 21 วัน และ 35 วัน ชั่งน้ำหนักมีชีวิตของไก่ทุกตัวแล้วฆ่าด้วยวิธี Asphyxiation โดยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ประมาณ 1.5-2.0 นาที จากนั้นชำแหละซากไก่กระทงแล้วแยกชิ้นส่วนอวัยวะภายในและกระดูกส่วน Tibia ของไก่เพื่อชั่งน้ำหนักเป็นกรัมและคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์โดยเทียบกับน้ำหนักมีชีวิต วัดความยาวของระบบทางเดินอาหารส่วนต่างๆ และวัดสภาวะความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารส่วนกระเพาะบด กระเพาะแท้ ลำไส้เล็กส่วนต้น และลำไส้เล็กส่วนกลาง เก็บตัวอย่างตับและกระดูกส่วน Tibia ไว้ในตู้แช่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและทางกายภาพสำหรับกระดูก Tibia ต่อไป

4. การวิเคราะห์ทางเคมี

4.1 วิเคราะห์โปรตีนและความชื้นในตับ โดย Proximate analysis ตามวิธี AOAC (1990)

4.2 วิเคราะห์หาไตรกลีเซอไรด์ในตับโดยดัดแปลงจากวิธีของ Sutton *et al*. (1984) การเตรียมตัวอย่างตับ คือ ทำการสกัดไขมันจากตับโดยชั่งตับ 1 กรัม เจือจางด้วย Acetone:Ethanol (1:1 v/v) 5 เท่าของน้ำหนักตับ แล้วนำไป Homogenized ความเร็ว 20,000 รอบ/นาที นาน 1 นาที หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที นำสารตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์ ด้วยวิธี Enzymatic Colorimetric Method ด้วยเครื่อง Spectrophotometer โดยใช้ชุดทดสอบของบริษัท Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH

4.3 วิเคราะห์ปริมาณไขมันทั้งหมดในตับ โดยดัดแปลงจากวิธีของ Folch *et al.* (1957) การเตรียมตัวอย่างตับ คือ ชั่งตัวอย่างตับปริมาณ 3 กรัม สกัดไขมันออกด้วยสารละลาย Chloroform: Methanol ในอัตราส่วน 2:1 (v/v) 10 เท่า แล้วนำไปทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน (Homogenized) ความเร็ว 20,000 รอบ/นาที นาน 1 นาที เขย่า 1-2 นาที นำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 โดยใช้เครื่องดูดช่วยนำสารละลายที่กรองได้ไปหาปริมาณไขมันทั้งหมดในตับต่อไป (รายละเอียดอยู่ในภาคผนวก)

4.4 วิเคราะห์องค์ประกอบของโภชนะต่าง ๆ ในมูล คือ ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า โดยวิธี Proximate Analysis ตามวิธีของ AOAC (1990) และวิเคราะห์ปริมาณ แคลเซียม ฟอสฟอรัส ตามวิธีของ AOAC (1990) ดัดแปลงโดย อังคณา และดวงสมร (2523) และวิเคราะห์ความเป็นกรด - ด่าง โดยเจือจางด้วยน้ำกลั่นที่ไม่มีประจุ (Deionize) 3 เท่า วัดค่าโดยเครื่อง pH meter (ราชาวดี, 2546)

4.5 นำกระดูก Tibia ไปวัดความแข็งของกระดูก (Bending Strength) โดยวิธี 3 - Point Bending Test จากนั้นนำไปวิเคราะห์หา โปรตีน และเถ้า โดยวิธี Proximate Analysis ตามวิธีของ AOAC (1990) และวิเคราะห์ปริมาณ แคลเซียม ฟอสฟอรัส ตามวิธีของ AOAC (1990) ดัดแปลงโดย อังคณา และดวงสมร (2523)

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of Variance: ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design: CRD และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธีของ Duncan' new multiple range test (DMRT) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS (SAS, 1988) โดยมีแบบหุ่นทางสถิติคือ

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

Y_{ij} = ค่าทำนาย

μ = ค่าเฉลี่ยร่วม

A_i = อิทธิพลของแหล่งเมทไธโอนีนสังเคราะห์

โดย i = 1 (Basal diet)

2 (DL - Met)

3 (DL - MHA)

ε_{ij} = ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง โดย $\varepsilon_{ij} \sim NID(0, \delta^2)$

6. ระยะเวลาในการทดลอง

- เริ่มการทดลองประมาณ ธันวาคม 2548

- สิ้นสุดการทดลองประมาณ กุมภาพันธ์ 2549

7. สถานที่ทำการทดลอง

- ศูนย์วิจัยสัตว์กรุงเทพ ฯ บริษัท อายิโนะโมะโต๊ะ ประเทศไทย จำกัด

- ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ

- ศูนย์เครื่องจักรกลทางการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

ผลและวิจารณ์การทดลอง

การทดลองที่ 1

1. อิทธิพลของแหล่งเมทไธโอนีนสังเคราะห์ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต

1.1 ผลของเมทไธโอนีนต่อปริมาณการกินอาหารของไก่กระทง

เมื่อพิจารณาแหล่งของเมทไธโอนีนสังเคราะห์ที่ต่างกันในอาหารไก่กระทงเพศผู้ต่อปริมาณการกินอาหาร (ตารางที่ 9) พบว่า ในระยะแรก 0 – 21 วัน ไก่กระทงที่กินอาหารเสริมเมทไธโอนีนทั้งสองแหล่งมีปริมาณการกินอาหารสูงกว่ากลุ่มที่กินอาหารขาดเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีนในรูป DL-Met กับ DL-MHA พบว่าปริมาณการกินอาหารไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 965.31, 1092.01 และ 1117.38 กรัม/ตัว ตามลำดับ

ไก่กระทงระยะรุ่น 22 – 42 วัน พบว่า ปริมาณการกินอาหารของกลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีนในรูป DL-Met และ DL-MHA มีค่าไม่ต่างกันทางสถิติที่ 3191.19 และ 3306.98 กรัม/ตัว ตามลำดับ แม้กลุ่มที่เสริม DL-MHA จะมีแนวโน้มที่สูงกว่า นอกจากนี้ไก่กระทงที่กินอาหารไม่เสริมเมทไธโอนีน มีปริมาณการกินอาหาร เท่ากับ 3067.24 กรัม/ตัว ซึ่งต่ำกว่ากลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีนแบบ DL-MHA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม DL-Met มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ

เมื่อพิจารณาตั้งแต่ระยะแรก – ระยะรุ่น พบว่าไก่กระทงที่กินอาหารเสริมเมทไธโอนีนทั้งสองแหล่งมีปริมาณการกินอาหารสูงกว่ากลุ่มไม่เสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม DL-Met กับ DL-MHA พบว่าปริมาณการกินอาหารไม่แตกต่างกันทางสถิติ แม้กลุ่ม DL-MHA จะมีแนวโน้มสูงกว่ากลุ่ม DL-Met ซึ่งเท่ากับ 4029.5, 4277.20 และ 4417.51 กรัม/ตัว ตามลำดับ

ตารางที่ 9 แสดงผลของแหล่งเมทไธโอนีนต่อปริมาณการกินอาหารของไก่กระทง ในแต่ละช่วงอายุ

ลักษณะที่ศึกษา (กรัม/ตัว)	Basal diet[1/]	DL-Met[1/]	DL-MHA[1/]
ระยะแรก (0-21 วัน)	965.31 ± 16.44 [B]	1092.01 ± 8.12 [A]	1117.38 ± 6.31 [A]
ระยะรุ่น (22-42 วัน)	3067.24 ± 74.18 [b]	3191.19 ± 49.24 [ab]	3306.98 ± 17.19 [a]
ระยะแรก-รุ่น (0-42 วัน)	4029.5 ± 86.24 [B]	4277.20 ± 55.16 [A]	4417.51 ± 19.99 [A]

หมายเหตุ [a และ b] อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

[A และ B] อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$)

[1/] ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

N = 150 ตัว/กลุ่ม

จากการทดลองพบว่า การเสริมเมทไธโอนีนสังเคราะห์ในอาหารทำให้ไก่กระทงมีปริมาณการกินอาหารสูงกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีน สอดคล้องกับการทดลองของ Rostagno และ Barbosa (1995) พบว่าในไก่กระทงระยะรุ่น 21-42 วัน ปริมาณการกินอาหารของกลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนสังเคราะห์เท่ากับ 2,654.7 กรัม ซึ่งต่ำกว่ากลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีนรูป DL-Met กับ DL-MHA (2,679.0 และ 2,713.2 กรัม) และมีรายงานของ Meirelles และคณะ (2003) พบว่า แหล่งเมทไธโอนีนที่ต่างกันไม่มีผลต่อปริมาณการกินอาหาร โดยในระยะแรก 0-21 วัน กลุ่มที่กินแบบ DL-Met กับ MHA มีค่าเท่ากับ 1,159 และ 1,145 กรัม ตามลำดับ และในระยะรุ่น 22-42 วันเท่ากับ 3,173 และ 3,275 กรัม ตามลำดับ ดังนั้น การเสริมเมทไธโอนีนสังเคราะห์ในอาหารจึงทำให้ไก่กระทงมีปริมาณการกินอาหารสูงขึ้น เนื่องจาก การขาดเมทไธโอนีนอาจทำให้เกิดกรดอะมิโนไม่สมดุล โดยกรดอะมิโนไม่สมดุลมีผลต่อความยากอาหารและพฤติกรรมการกินอาหารเปลี่ยนไป ส่งผลต่อระบบเมทาบอลิซึม และปริมาณการกินอาหารที่ลดลง (Rogers and Leung, 1973; Boorman, 1979) โดยพบว่า ความเข้มข้นของกรดอะมิโนที่จำเป็นในเลือดและกล้ามเนื้อจะลดลงอย่างรวดเร็ว เมื่อเกิดกรดอะมิโนไม่สมดุลอย่างรุนแรง (Harper et. al., 1970; Haper และ Rogers, 1965) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Kiraz และ Sengül (2005) ที่รายงานว่า ไก่กระทงที่กินอาหารขาดกรดอะมิโนเมทไธโอนีนจะแสดงอาการเบื่ออาหาร แต่เมื่อเสริมเมทไธโอนีนสังเคราะห์ในอาหารไก่กระทงจะมีปริมาณการกินอาหารสูงขึ้นในระดับปกติ อย่างไรก็ตามการเสริมระดับเมทไธโอนีนเกินความต้องการของร่างกายก็ส่งผลต่อปริมาณการกินอาหารเช่นกัน เพราะจะทำให้ปริมาณ Serotonin ในสมองลดลง ซึ่ง Serotonin เป็นสารสื่อประสาทที่ส่งสัญญาน (Signal) ให้สัตว์ลด

ความยากกินอาหารลง (Yokogoshi *et al.*, 1987) นอกจากนี้ Serotonin ยังทำให้ Growth Hormone ลดลง (Smith *et al.,* 1988 และ Edmonds *et al,.* 1985) แม้ Leeson and Summer (1991) จะรายงานว่าปัจจัยที่ควบคุมการกินอาหารของไก่กระทงคือ ความจุของกระเพาะมากกว่าระดับโภชนะต่างๆ ในอาหารก็ตาม

1.2 ผลของเมทไธโอนีนต่อน้ำหนักสิ้นสุด น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นและอัตราการเจริญเติบโต

ผลการศึกษาแหล่งของเมทไธโอนีนสังเคราะห์ในอาหารไก่กระทงเพศผู้แต่ละช่วงอายุ ต่อน้ำหนักสิ้นสุด น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตแสดงในตารางที่ 10 พบว่า จากน้ำหนักเริ่มต้นที่ไม่แตกต่างกัน (ค่าเฉลี่ย 38.60 $\pm$ 0.13 กรัม) เมื่อไก่กระทงได้รับอาหารทดลองที่ต่างกันมีผลทำให้ไก่กระทงในระยะแรก 0 – 21 วัน มีน้ำหนักสิ้นสุด เท่ากับ 773.83, 952.15 และ 976.21 กรัม/ตัว น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น เท่ากับ 735.23, 913.56 และ 937.61 กรัม/ตัว และอัตราการเจริญเติบโต เท่ากับ 35.01, 43.50 และ 44.65 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ ในระยะรุ่น 22 – 42 วัน มีน้ำหนักสิ้นสุด เท่ากับ 2376.21, 2725.30 และ 2820.91 กรัม/ตัว น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น เท่ากับ1602.38, 1773.15 และ 1844.70 กรัม/ตัว และอัตราการเจริญเติบโต เท่ากับ 76.30, 84.44 และ 87.84 กรัม/ตัว/วัน และเมื่อพิจารณาตลอดการทดลอง (0 – 42 วัน) น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น เท่ากับ 2337.60, 2686.70 และ 2782.31 กรัม/ตัว และอัตราการเจริญเติบโต เท่ากับ 55.66, 63.97 และ 66.25 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ ซึ่งพบว่าไก่กระทงที่กินอาหารเสริมเมทไธโอนีนในแต่ละช่วงอายุและตลอดการทดลอง มีน้ำหนักสิ้นสุด น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นและอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่เสริม DL-Met กับ DL-MHA พบว่า น้ำหนักสิ้นสุด น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นและอัตราการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันทางสถิติ แม้กลุ่มที่เสริม DL-MHA มีแนวโน้มสูงกว่ากลุ่ม DL-Met ซึ่งอาจเป็นเพราะค่า Bioefficacy สำหรับน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นและอัตราการเจริญเติบโตของ DL-MHA อาจดีกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ โดย Bioefficacy ของ DL-MHA เพื่อน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นและประสิทธิภาพการกินอาหารมีค่าหลากหลาย ซึ่งสอดคล้องกับการผลการทดลอง

ตารางที่ 10 แสดงผลของแหล่งเมทไธโอนีนต่อน้ำหนักตัวและน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นของไก่กระทง ในแต่ละช่วงอายุ

ลักษณะที่ศึกษา	Basal diet[1/]	DL-Met[1/]	DL-MHA[1/]
น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม/ตัว)	38.61 ± 0.24	38.59 ± 0.24	38.60 ± 0.24
น้ำหนักสิ้นสุด (กรัม/ตัว)			
ระยะแรก (0-21 วัน)	773.83 ± 14.47 [B]	952.15 ± 11.07 [A]	976.21 ± 8.27 [A]
ระยะรุ่น (22-42 วัน)	2376.21 ± 52.50 [B]	2725.30 ± 37.96 [A]	2820.91 ± 22.87 [A]
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ตัว)			
ระยะแรก (0-21 วัน)	735.23 ± 14.33 [B]	913.56 ± 11.21 [A]	937.61[A] ± 8.07 [A]
ระยะรุ่น (22-42 วัน)	1602.38 ± 44.06 [B]	1773.15 ± 33.74 [A]	1844.70[A] ± 19.86 [A]
ระยะแรก-ระยะรุ่น (0-42 วัน)	2337.6 ± 52.40 [B]	2686.70 ± 37.90 [A]	2782.31[A] ± 22.86 [A]
อัตราการเจริญเติบโต (กรัม/ตัว/วัน)			
ระยะแรก (0-21 วัน)	35.01 ± 0.68 [B]	43.50 ± 0.53 [A]	44.65 ± 0.38 [A]
ระยะรุ่น (22-42 วัน)	76.30 ± 2.10 [B]	84.44 ± 1.61 [A]	87.84 ± 0.95 [A]
ระยะแรก-ระยะรุ่น (0-42 วัน)	55.66 ± 1.25 [B]	63.97 ± 0.90 [A]	66.25 ± 0.54 [A]

หมายเหตุ [A และ B] อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

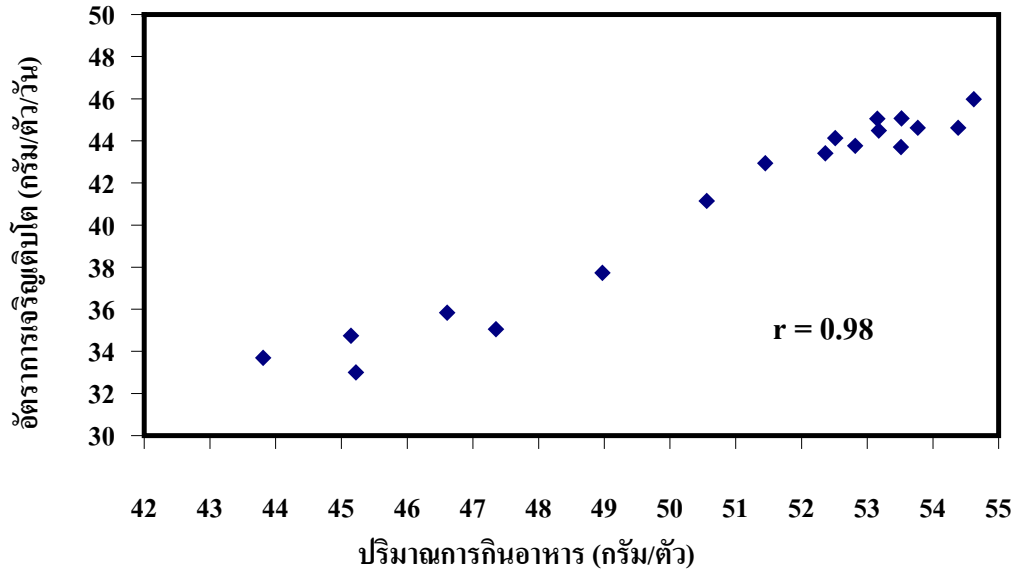
[1/] ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

N = 150 ตัว/กลุ่ม

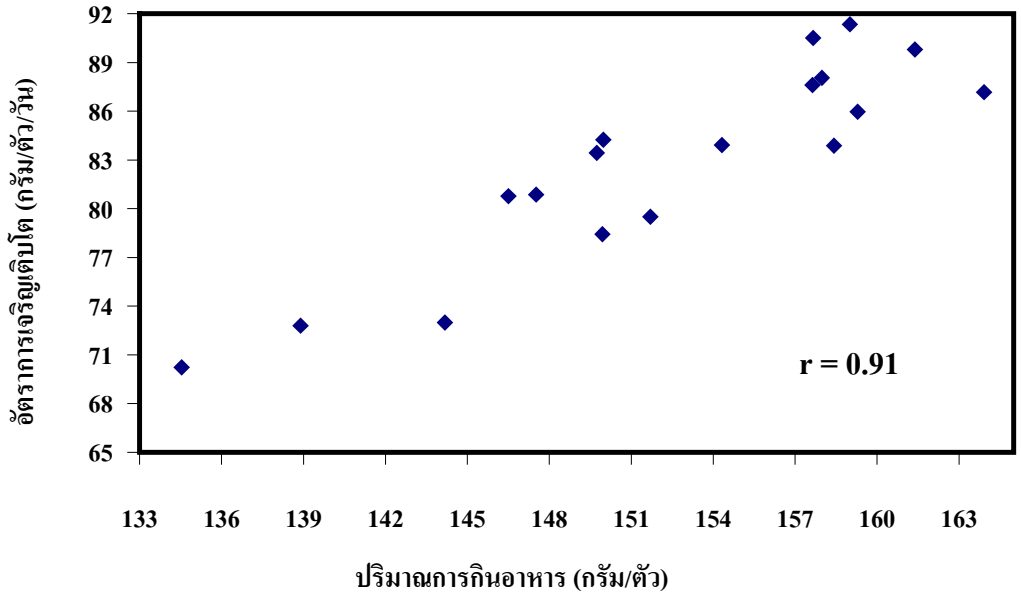
เมทไธโอนีนจัดเป็นกรดอะมิโนที่จำกัดอันดับหนึ่งในสัตว์ปีก อาหารที่มีสัดส่วนของกรดอะมิโนที่สมดุลจะทำให้การสังเคราะห์โปรตีนมีประสิทธิภาพขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับกฎของ Liebig ที่กล่าวถึง “Law of Minimums” ว่าการขาดกรดอะมิโนที่จำเป็นแม้เพียงหนึ่งตัวก็ทำให้การใช้ประโยชน์ได้ของกรดอะมิโนตัวที่เหลือลดลง (ชัยภูมิ , 2548) สอดคล้องกับ Kino and Okmura (1986) ที่รายงานว่าไก่ที่ได้รับเมทไธโอนีนไม่เพียงพอกับความต้องการของร่างกายจะมีการเจริญเติบโตช้า มีการสังเคราะห์โปรตีนในร่างกายลดลง ดังนั้น ไก่กระทงที่กินอาหารเสริมเมทไธโอนีนจึงมีน้ำหนักสิ้นสุด น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตที่ดีกว่า กลุ่มที่ขาดเมทไธโอนีน (Ribeiro *et al*., 2005; Schutte and van Weerden 1981; Twining and Hochstetler 1982 และ Elkin and Hester 1983) โดยอัตราการเจริญ

เติบโตตลอดการทดลองของกลุ่มที่เสริม DL-Met และ DL-MHA มีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 14.93 เปอร์เซ็นต์ และ 19.02 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ขาดเมทไธโอนีน สอดคล้องกับ Garlich (1985) Huyghebaert (1993) Rostagno และ Barbosa (1995) ที่รายงานว่า การเสริมเมทไธโอนีนจะส่งเสริมน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ประมาณ 12 - 14 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับสัตว์ที่กินอาหารขาดเมทไธโอนีน

ไก่กระทงที่ได้กินอาหารเสริมเมทไธโอนีนสังเคราะห์ในรูปแบบที่ต่างกันไม่มีผลต่อน้ำหนักสิ้นสุด น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตในทุกช่วงอายุของไก่กระทงเพศผู้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับ Romoser *et al.* (1976) และ Waldroup *et al.* (1981) ที่รายงานว่าการเสริมเมทไธโอนีนสังเคราะห์ในรูปแบบ MHA-FA (methionine hydroxy analogue free acid), MHA-Ca (DL-methionine hydroxy-analogue calcium), DL-Methionine และ L-Methionine ในอาหารไก่กระทงไม่มีผลต่อการกระตุ้นสมรรถภาพการเจริญเติบโต เนื่องจาก ปริมาณการกินอาหารของไก่กระทงไม่แตกต่างกันจึงทำให้ได้รับสารอาหารไม่แตกต่างกัน ซึ่งปริมาณการกินอาหารที่สูงขึ้นช่วยกระตุ้นให้อัตราการเจริญเติบโตเสูงขึ้น (Schutte and Pack. 1995) และเมื่อพิจารณาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจริญเติบโตกับปริมาณการกินอาหารพบว่ามีทิศทางไปในทางบวก ในระยะแรก 0-21 วัน $r = 0.98$ ($P < 0.01$) และในระยะรุ่น 22-42 วัน มีค่าเท่ากับ $r = 0.91$ ($P < 0.01$) ดังแสดงในภาพที่ 10 และ 11 อย่างไรก็ตาม มีรายงานของ Van Weerden *et al*. (1983) และ Meirelles *et al*. (2003) ว่า การเสริม DL-Met ในอาหารไก่กระทงสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตได้ดีกว่ากลุ่มที่เสริม DL-MHA โดยมีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นในระยะแรก 0-21 วัน เท่ากับ 818 และ 799 กรัม/ตัว และในระยะรุ่น 22-42 วัน เท่ากับ 1,589 และ 1,585 กรัม/ตัว ตามลำดับ ซึ่งอาจเป็นเพราะ Bioefficacy ของ DL-MHA ในการทดลองดังกล่าวมีค่าต่ำกว่าการทดลองในครั้งนี้จึงมีผลทำให้กลุ่มที่กินอาหารเสริม DL-Met มีน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นสูงกว่ากลุ่มที่กินอาหารเสริม DL-MHA



ภาพที่ 10 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการกินอาหารกับอัตราการเจริญเติบโตในระยะแรก



ภาพที่ 11 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณการกินอาหารกับอัตราการเจริญเติบโตในระยะรุ่น

1.3 ผลเมทไธโอนีนต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว

ผลจากการวิเคราะห์ทางสถิติของแหล่งเมทไธโอนีนสังเคราะห์ที่ต่างกันในอาหารไก่กระทงเพศผู้แต่ละช่วงอายุและตลอดการทดลอง ต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวแสดงในตารางที่ 11 พบว่า ช่วงระยะแรก 0 – 21 วัน ไก่กระทงที่กินอาหารไม่เสริมเมทไธโอนีนกับเสริมเมทไธโอนีน (DL-Met และ DL-MHA) มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว เท่ากับ 1.31, 1.20 และ 1.19 ตามลำดับ ในช่วงระยะรุ่น 22 – 42 วัน มีค่าเท่ากับ 1.92, 1.80 และ 1.79 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาตลอดการทดลอง (0 – 42 วัน) มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว เท่ากับ 1.72, 1.59 และ 1.59 ตามลำดับ โดยไก่กระทงที่กินอาหารเสริมเมทไธโอนีนในรูป DL-Met และ DL-MHA มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวดีกว่ากลุ่มที่กินอาหารแบบไม่เสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$)

เนื่องจาก ปริมาณการกินอาหารและน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นของไก่กระทงแตกต่างกัน จึงส่งผลให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวของไก่กระทงแตกต่างกัน ซึ่งการเพิ่มระดับเมทไธโอนีนสูงขึ้นทำให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวดีขึ้น (Kalinowski *et al*., 2003) เพราะเมทไธโอนีนจัดเป็นกรดอะมิโนที่จำเป็น มีความสำคัญต่อการเพิ่มสมดุลของกรดอะมิโนในร่างกาย ทำให้สามารถใช้ประโยชน์จากกรดอะมิโนได้สูงสุด และช่วยให้ร่างกายสัตว์เจริญเติบโตตามปกติ โดยอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวตลอดการทดลองของกลุ่มที่เสริม DL-Met และ DL-MHA มีค่าดีขึ้นเท่ากันคือ 7.56 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ขาดเมทไธโอนีน แม้จะมีรายงานของ Huyghebaert (1993) และ Schutte and Pack (1995) ว่าไก่กระทงที่กินอาหารเสริมเมทไธโอนีนมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวดีกว่ากลุ่มที่ขาดเมทไธโอนีน 11 เปอร์เซ็นต์

เมื่อเปรียบเทียบกลุ่มที่เสริม DL-Met กับ DL-MHA พบว่า อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวไม่แตกต่างกันทางสถิติ สอดคล้องกับรายงานของ Chen *et al*. (2003); Schutte and van Weerden (1987); Garlich (1985); van Weerden *et al*.(1983); van Weerden and Schutte(1982) และ Boebel and Baker (1982) และมีรายงานของ Bunchasak and Keawarun (2006) ว่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวในไก่กระทงอายุ 0-42 วัน เท่ากับ 1.869, 1.749 และ 1.789 เมื่อกินอาหาร Basal diet, DLM และ LMA ตามลำดับ พบว่า กลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีนมีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวดีกว่ากลุ่มที่ขาดเมทไธโอนีน แต่แหล่งเมทไธโอนีนที่ต่างกันไม่มีผลต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว อาจเป็นเพราะในการทดลองกำหนดให้ DL-MHA มี Bioefficacy เท่ากับ 80 เปอร์เซ็นต์ของ

DL-Met ซึ่ง Bioefficacy ดังกล่าวมีผลไม่ต่างจากกลุ่มที่เสริม DL-Met ตรงข้ามกับรายงานของ Meirelles *et al*. (2003); Balnave and Oliva (1990) และ van Weerden *et al*.(1983) ว่าไก่กระทงที่กินอาหารเสริม DL-Met มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวดีกว่ากลุ่มที่กินอาหารเสริม MHA

ตารางที่ 11 แสดงแหล่งของเมทไธโอนีนต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวของไก่กระทง ในแต่ละช่วงอายุ

ลักษณะที่ศึกษา	Basal diet [1/]	DL-Met [1/]	DL-MHA [1/]
ระยะแรก (0-21 วัน)	1.31 ± 0.01^{A}	1.20 ± 0.01^{B}	1.19 ± 0.01^{B}
ระยะรุ่น (22-42 วัน)	1.92 ± 0.01^{A}	1.80 ± 0.02^{B}	1.79 ± 0.01^{B}
ระยะแรก-ระยะรุ่น (0-42 วัน)	1.72 ± 0.01^{A}	1.59 ± 0.01^{B}	1.59 ± 0.01^{B}

หมายเหตุ $^{A \text{ และ } B}$ อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$)

[1/] ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

N = 150 ตัว/กลุ่ม

1.4 ผลเมทไธโอนีนต่ออัตราการตายและความสม่ำเสมอ

จากการศึกษาไก่กระทงที่ได้รับอาหารที่ขาดเมทไธโอนีนกับกลุ่มที่เสริม DL-Met และ DL-MHA พบว่า อัตราการตายของไก่กระทงเพศผู้ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ แม้ว่าไก่กระทงที่กินอาหารที่เสริม DL-MHA จะมีอัตราการตายที่สูงกว่า มีค่าเฉลี่ยในระยะแรก (0-21 วัน) ระยะรุ่น (22-42 วัน) และตลอดการทดลอง เท่ากับ 0.67, 0.69 และ 1.33 ตัว ตามลำดับ (ตารางที่ 12) ซึ่งอาจเป็นเพราะไก่กระทงที่กินอาหารเสริม DL-MHA มีแนวโน้มของอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่าค่ามาตรฐานสายพันธุ์ Ross 208 (male) จากปริมาณการกินอาหารที่สูงมาก

นวลจันทร์ (2544) กล่าวว่า ความต้องการสารอาหารในปัจจุบันมี 2 แบบ คือความต้องการขั้นต่ำสุด (Minimum nutrient requirement) และความต้องการที่เผื่อไว้เพื่อความปลอดภัย (Allowance) ดังนั้น ไก่กระทงที่กินอาหารขาดเมทไธโอนีนอาจมีระดับของสารอาหารอยู่ที่ขั้นต่ำสุด ซึ่งเพียงพอสำหรับการดำรงชีพแต่ไม่พอสำหรับการให้ผลผลิต จึงส่งผลให้ไก่กระทงที่กินอาหารขาดเมทไธโอนีน

มีสมรรถภาพการผลิตต่ำแต่ไม่มีผลต่ออัตราการตาย (Scott *et al*., 1982) นอกจากนี้ สมนึก (2537) รายงานว่า ไก่กระทงที่ได้รับเมทไธโอนีน 0.25 เปอร์เซ็นต์ จะมีอัตราการตายสูงถึง 5 เปอร์เซ็นต์ เพราะ เมทไธโอนีนไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย ไก่กระทงมีแนวโน้มอ่อนแอลงและมีอัตราการตายสูงขึ้น แต่ในการทดลองกลับพบว่าระดับเมทไธโอนีนในอาหารของกลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนมีค่าสูงกว่าที่รายงานไว้ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.35 และ 0.30 เปอร์เซ็นต์ ในระยะแรก 0-21 วันและ ระยะรุ่น 22-42 วัน ตามลำดับ จึงทำให้อัตราการตายไม่ต่างจากกลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีนแต่ส่งผลต่อสมรรถภาพการผลิตให้ลดลง

เมื่อพิจารณาแหล่งของเมทไธโอนีนสังเคราะห์ต่อความสม่ำเสมอ ดังตารางที่ 14 พบว่า ในระยะแรก 0 – 21 วัน ไก่กระทงที่กินอาหารเสริมเมทไธโอนีนทั้งสองแหล่งมีความสม่ำเสมอสูงกว่ากลุ่มที่ขาดเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่เสริม DL-Met กับ DL-MHA พบว่าความสม่ำเสมอไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 88.08, 91.26 และ 92.56 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับในระยะรุ่น 22 – 42 วัน พบว่า ความสม่ำเสมอของกลุ่มที่เสริม DL-Met และ DL-MHA มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 89.62 และ 92.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แม้กลุ่มที่เสริม DL-MHA จะมีแนวโน้มที่สูงกว่า นอกจากนี้ไก่กระทงที่กินอาหารที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนมีความสม่ำเสมอ เท่ากับ 88.07 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต่ำกว่ากลุ่มที่เสริม DL-MHA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่กินอาหารแบบ DL-Met มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ความสม่ำเสมอในระยะแรก – ระยะรุ่น พบว่าไก่กระทงที่กินอาหารเสริม DL-Met และ DL-MHA มีความสม่ำเสมอไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 90.44 และ 92.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แม้กลุ่มที่เสริม DL-MHA จะมีแนวโน้มที่สูงกว่า และไก่กระทงที่กินอาหารขาดเมทไธโอนีนมีความสม่ำเสมอ เท่ากับ 88.08 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต่ำกว่ากลุ่มที่เสริม DL-MHA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่กินอาหารแบบ DL-Met มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากการทดลองพบว่า การเสริมเมทไธโอนีนสังเคราะห์ในอาหารไก่กระทงช่วยปรับปรุงความสม่ำเสมอของน้ำหนักตัวได้ดีกว่ากลุ่มที่ขาดเมทไธโอนีน สอดคล้องกับ Bunchasak and Keawarun (2006) รายงานว่า ไก่กระทงที่กินอาหารเสริม DL-Met และ DL-MA มีความสม่ำเสมอของน้ำหนักตัวเท่ากับ 92.28 และ 92.01 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ขาดเมทไธโอนีน (88.31 เปอร์เซ็นต์) เช่นเดียวกับ Mack *et al.* (2005) รายงานว่าการเสริมเมทไธโอนีนทำให้ความแปรปรวนภายในฝูงของไก่กระทงลดลงจาก 16.8 เปอร์เซ็นต์ เป็น 6.7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสาเหตุของความสม่ำเสมอภายในฝูงที่แตกต่างกันอาจมาจากความไม่สมดุลของกรดอะมิโนในอาหารและอัตราการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว โดยเฉพาะในไก่ตัวผู้จะมีความแปรปรวนภายในฝูงมากกว่าไก่ตัวเมีย เพราะมีอัตราการเจริญเติบโตรวดเร็วกว่า (Corzo *et al.,* 2004) โดย Waldroup *et al.* (2002) ได้รายงานว่า ความสม่ำเสมอภายในฝูงไก่กระทงจะลดลง เมื่อความเข้มข้นของกรดอะมิโนในอาหารลดลง และระดับกรดอะมิโนที่เหมาะสมช่วยลดความแปรปรวนภายในฝูงได้ นอกจากนี้ความแปรปรวนภายในฝูงยังขึ้นกับระดับและระยะเวลาของการขาดกรดอะมิโนด้วย (Mack *et al.,* 2005) และเป็นที่น่าสังเกตว่าการเสริม DL-Met และ DL-MHA ในอาหารไก่กระทงสามารถเพิ่มความสม่ำเสมอของน้ำหนักตัวตลอดการทดลองได้ 2.68 และ 4.83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่ง DL-MHA มีแนวโน้มของความสม่ำเสมอสูงกว่า DL-Met โดยเฉพาะในระยะรุ่น 22-42 วัน

ตารางที่ 12 แสดงแหล่งของเมทไธโอนีนต่ออัตราการตายและความสม่ำเสมอของไก่กระทง ในแต่ละช่วง (เปอร์เซ็นต์)

ลักษณะที่ศึกษา	Basal diet [1/]	DL-Met [1/]	DL-MHA [1/]
อัตราการตาย			
ระยะแรก (0-21 วัน)	0	0	0.67 ± 0.67
ระยะรุ่น (22-42 วัน)	0	0	0.69 ± 0.69
ระยะแรก-ระยะรุ่น (0-42 วัน)	0	0	1.33±0.84
ความสม่ำเสมอ			
ระยะแรก (0-21 วัน)	88.08 ± 1.42 [b]	91.26 ± 0.56 [a]	92.56 ± 0.74 [a]
ระยะรุ่น (22-42 วัน)	88.07 ± 1.04 [b]	89.62 ± 1.12 [ab]	92.10 ± 0.64 [a]
ระยะแรก-ระยะรุ่น (0-42 วัน)	88.08 ± 1.17 [b]	90.44 ± 0.69 [ab]	92.33 ± 0.59 [a]

หมายเหตุ [a และ b] อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

[1/] ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

N = 150 ตัว/กลุ่ม

2. อิทธิพลของแหล่งเมทไธโอนีนสังเคราะห์ต่อคุณภาพซากที่อายุ 42 วัน

2.1 ผลเมทไธโอนีนต่อลักษณะคุณภาพซาก

ผลการศึกษาไก่กระทงที่กินอาหารขาดเมทไธโอนีนกับกลุ่มที่เสริม DL-Met และ DL-MHA ต่อลักษณะคุณภาพซาก แสดงในตารางที่ 13 โดยเปอร์เซ็นต์ซากของไก่กระทงมีค่า เท่ากับ 79.97, 80.96 และ 80.15 % น้ำหนักตัว ตามลำดับ ซึ่งวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าค่าเฉลี่ยแต่ละกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับน้ำหนักของสะโพก ปีกบน ปีกล่าง และน่อง ที่มีค่าไม่แตกต่างทางสถิติเช่นกัน แต่ในส่วนน้ำหนักของกล้ามเนื้อสันใน กล้ามเนื้อสันนอก และเนื้อทั้งหมดของกลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีนสังเคราะห์ทั้งสองแบบมีความแตกต่างกัน โดยมีค่ามากกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่เสริม DL-Met และ DL-MHA พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งแต่ละกลุ่มมีน้ำหนักของ

กล้ามเนื้อสันใน กล้ามเนื้อสันนอก และเนื้อทั้งหมด เท่ากับ (3.19, 3.59 และ 3.58) (12.03, 13.83 และ 13.96) และ (45.67, 47.88 และ 47.36) % น้ำหนักตัว ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาน้ำหนักโครงและแข้ง มีค่าเท่ากับ 31.76, 30.81 และ 30.46 %น้ำหนักตัว ตามลำดับ โดยกลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีนสังเคราะห์ทั้ง 2 แหล่งมีน้ำหนักโครงและแข้งน้อยกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่เสริม DL-Met และ DL-MHA พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

คุณภาพซากที่ดีมีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมการผลิตไก่กระทงในปัจจุบัน เนื่องจากความต้องการบริโภคโปรตีนเพิ่มมากขึ้น จากการทดลอง เสริมเมทไธโอนีนทั้ง 2 แหล่ง พบว่า ทำให้คุณภาพซากดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีน โดยเฉพาะส่วนของกล้ามเนื้อสันในและกล้ามเนื้อสันนอก เพราะเมทไธโอนีนเป็นกรดอะมิโนที่สำคัญสำหรับการสังเคราะห์โปรตีนในไก่กระทง (Meirelles, 2003) เมื่อมีเมทไธโอนีนสูงขึ้นการสังเคราะห์โปรตีนเพิ่มมากขึ้น สอดคล้องกับหลายการทดลองที่พบว่า การเสริมเมทไธโอนีนสูงขึ้นในอาหารทำให้น้ำหนักเนื้อหน้าอกเพิ่มขึ้น ส่วนน้ำหนักไขมันช่องท้องจะลดลง (Jianlin *et al.,* 2004; Wallis, 1999; Albino *et al.,* 1999; Gorman and Balnave, 1995; Hickling *et al.,* 1990 และ Mendoca and Jensen, 1989) เช่นเดียวกับ Edwin (1994) รายงานว่า ถ้าเมทไธโอนีนในอาหารมีปริมาณต่ำ จะทำให้สัดส่วนของกล้ามเนื้อหน้าอกลดลง เนื่องจากกล้ามเนื้อหน้าอกจะตอบสนองต่อการขาดเมทไธโอนีนได้รวดเร็ว และพบว่าระดับ TSAA ที่สูงขึ้นจะช่วยเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของสารอาหารและเนื้อหน้าอกมากกว่าการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัว (Huyghebaert and Pack, 1996; Schutte and Pack, 1995 และ Moran, 1994) ซึ่งไก่กระทงที่มีไขมันในร่างกายน้อยจะสามารถเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวได้ดีกว่าไก่ที่มีไขมันสะสมมาก (Washburn *et al.,* 1975)

ตารางที่ 13 ผลของแหล่งเมทไธโอนีน ต่อลักษณะคุณภาพซากของไก่กระทงอายุ 42 วัน (%น้ำหนักตัว)

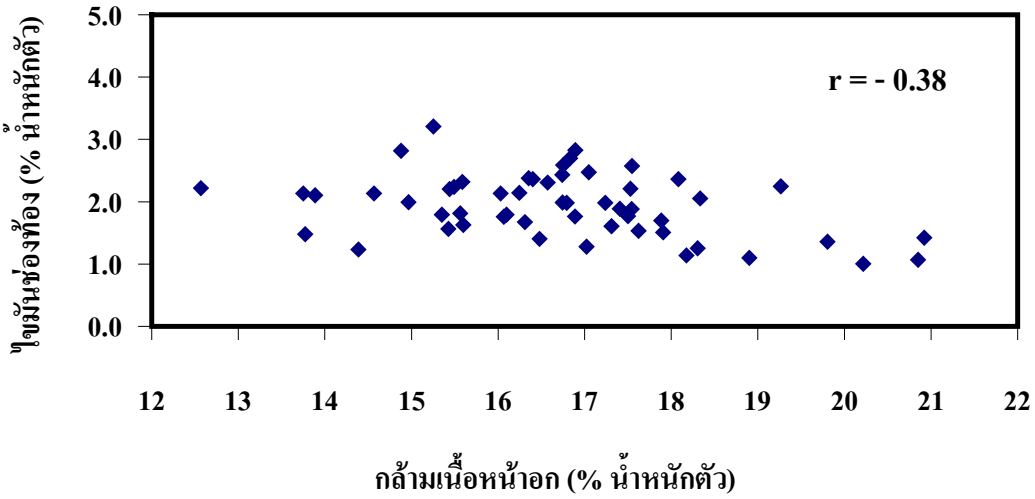
ลักษณะที่ศึกษา	Basal diet [1/]	DL-Met [1/]	DL-MHA [1/]
เปอร์เซ็นต์ซาก	79.97 ± 0.37	80.96 ± 0.51	80.15 ± 0.41
สะโพก	12.02 ± 0.15	11.97 ± 0.19	12.00 ± 0.16
ปีกบน	3.92 ± 0.10	4.00 ± 0.07	3.81 ± 0.07
ปีกล่าง	4.15 ± 0.04	4.13 ± 0.04	4.02 ± 0.04
น่อง	10.38 ± 0.12	10.36 ± 0.12	9.98 ± 0.16
กล้ามเนื้อสันใน	3.19 ± 0.07 [B]	3.59 ± 0.06 [A]	3.58 ± 0.06 [A]
กล้ามเนื้อสันนอก	12.03 ± 0.26 [B]	13.83 ± 0.30 [A]	13.96 ± 0.31 [A]
เนื้อทั้งหมด	45.67 ± 0.35 [B]	47.88 ± 0.40 [A]	47.36 ± 0.40 [A]
โครงและแข้ง	31.76 ± 0.23 [A]	30.81 ± 0.36 [B]	30.46 ± 0.28 [B]

หมายเหตุ [A และ B] อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$)

[1/] ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

N = 18 ตัว/กลุ่ม

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างกล้ามเนื้อหน้าอกกับไขมันช่องท้องของไก่กระทง พบว่า มีค่าสหสัมพันธ์มีทิศทางตรงข้ามกัน r = -0.38 (P = 0.0047) ดังภาพที่ 12 สอดคล้องกับ Wallis (1999) รายงานว่า ระดับของ DL-Met ที่เหมาะสม สามารถเพิ่มน้ำหนักเนื้อหน้าอกและลดน้ำหนักไขมันช่องท้องได้ ซึ่งความสัมพันธ์ของกล้ามเนื้อหน้าอกและไขมันช่องท้องเป็นไปในทิศทางลบ R^2 = 0.23 เช่นเดียวกับ Ratchett (2000) รายงานว่า โปรตีนและไขมันที่สะสมในร่างกายมีสหสัมพันธ์ทางลบต่อกัน ดังนั้น การสังเคราะห์โปรตีนเพื่อเพิ่มปริมาณเนื้อหน้าอก ทำให้ไขมันช่องท้องมีน้ำหนักลดลง (Bartov and Plavnik, 1998)



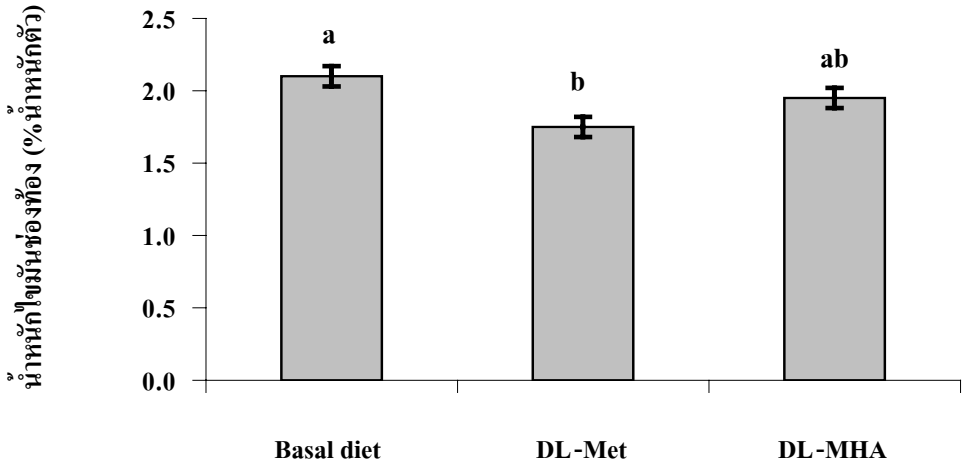
ภาพที่ 12 ความสัมพันธ์ระหว่างกล้ามเนื้อหน้าอกกับไขมันช่องท้องในไก่กระทงเพศผู้อายุ 42 วัน

2.2 ผลเมทไธโอนีนต่อไขมันช่องท้อง

เมื่อพิจารณาแหล่งของเมทไธโอนีนที่ต่างกันในอาหารไก่กระทงเพศผู้ต่อน้ำหนักไขมันช่องท้อง ดังแสดงในภาพที่ 13 พบว่า เมื่อสิ้นสุดการทดลองน้ำหนักไขมันช่องท้องของกลุ่มที่เสริม DL-Met และ DL-MHA มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 1.75 และ 1.95 % น้ำหนักตัว ตามลำดับ แม้กลุ่มที่เสริม DL-MHA จะมีแนวโน้มที่สูงกว่า นอกจากนี้ไก่กระทงที่กินอาหารขาดเมทไธโอนีนมีน้ำหนักไขมันช่องท้อง เท่ากับ 2.10 % น้ำหนักตัว ซึ่งมากกว่ากลุ่มที่เสริม DL-Met อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่กินอาหารแบบ DL-MHA มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สัดส่วนของไขมันช่องท้องเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อคุณภาพซากของไก่กระทง โดยปกติไก่กระทงจะมีไขมันช่องท้องประมาณ 2-3 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักมีชีวิต (Leenstra, 1986) และจากการทดลองเสริมเมทไธโอนีนในอาหารไก่กระทง พบว่า เปอร์เซ็นต์ไขมันช่องท้องลดลง อาจเป็นเพราะร่างกายมีการสังเคราะห์และสะสมโปรตีนมากขึ้น ทำให้การใช้ประโยชน์จากพลังงานสูงขึ้น ร่างกายจึงสะสมไขมันลดลง สอดคล้องกับ Bunchasak and Kaewarun (2006); Albino *et al.* (1999) Gorman and Balnave (1995); Edwin.(1994); Hickling *et al.* (1990) Mendonca and Jensen (1989) และ Boorman

and Burgess (1986) รายงานว่า การเสริมเมทไธโอนีนในอาหารไก่กระทงมีแนวโน้มลดการสะสมไขมันในช่องท้อง และการเพิ่มระดับ TSAA ในอาหารไก่เพศผู้และเพศเมียที่อายุ 42 วัน ทำให้น้ำหนักไขมันช่องท้องลดลง (Mandal *et al.,* 2004; Bunchasak *et al.*, 1997; Ohta *et al.,* 1993 และ Jensen *et al.,* 1989) และมีผลการทดลองของ Schutte and Pack (1995) ว่าระดับ TSAA ที่ 0.82 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดการสะสมไขมันช่องท้องได้ จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่ากลุ่มที่ขาดเมทไธโอนีนมี TSAA ที่ระดับ 0.75/0.64 เปอร์เซ็นต์ (ระยะแรกและระยะรุ่น) การสะสมไขมันจึงสูงกว่ากลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีน นอกจากนี้ พบว่าแหล่งเมทไธโอนีนสังเคราะห์ต่างกันไม่มีผลต่อการลดการสะสมไขมัน แม้ว่า DL-Met จะมีแน้วโน้มที่ดีกว่า สอดคล้องกับ Waldroup *et al.* (1981) รายงานว่า การเสริมเมทไธโอนีนแบบ DL-Met สามารถลดการสะสมไขมันช่องท้องได้ดีกว่าการเสริมแบบ MHA อาจเป็นเพราะ DL-MHA มีแนวโน้มการกินที่สูงกว่า



<u>ภาพที่ 13</u> แสดงแหล่งเมทไธโอนีนต่อน้ำหนักไขมันช่องท้องของไก่กระทงเพศผู้ที่อายุ 42 วัน

[a และ b] อักษรต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

N = 18 ตัว/กลุ่ม

3. <u>อิทธิพลของแหล่งเมทไธโอนีนสังเคราะห์ต่อลักษณะการเกิด Ascites</u>

3.1 ผลเมทไธโอนีนต่อลักษณะภาพตัดขวางของหัวใจเมื่อทำ cross section

ผลการศึกษาแหล่งของเมทไธโอนีนสังเคราะห์ในอาหารไก่กระทงเพศผู้แต่ละช่วงอายุ ต่อลักษณะหัวใจ (ตารางที่ 14) ของไก่กระทงอายุ 42 วัน พบว่า ไก่กระทงที่กินอาหารเสริมเมทไธโอนีนทั้งสองแหล่งมีน้ำหนักหัวใจ (% น้ำหนักตัว) ต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีนแบบ DL-Met กับ DL-MHA พบว่าน้ำหนักของหัวใจไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.52, 0.44 และ 0.47 % น้ำหนักตัว ตามลำดับ ส่วนลักษณะอื่นๆ ของหัวใจเมื่อทำ Cross section เพื่อศึกษาพื้นที่ ความหนา และน้ำหนักหัวใจของห้องล่างซ้าย และล่างขวา พบว่ามีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 16

ปัจจุบันไก่กระทงมีการปรับปรุงพันธุกรรมให้มีอัตราการเจริญเติบโตรวดเร็วจึงมีความเสี่ยงต่อการเกิด Ascites โดยเฉพาะในไก่กระทงเพศผู้ช่วงอายุ 4 สัปดาห์ เพราะไก่กระทงมีความต้องการออกซิเจนสูงตาม Metabolic rate ที่เพิ่มขึ้น (Wilson *et al.,* 1988; Maxwell *et al.,* 1986 และ Peckham, 1978) ถ้าหากไก่ได้รับออกซิเจนไม่เหมาะสมกับความต้องการจนเกิดภาวะขาดออกซิเจน จะทำให้สรีระของไก่กระทงมีการเปลี่ยนแปลง เกิดวิการของ Pulmonary hypertension น้ำหนักหัวใจเพิ่มมากขึ้น และหัวใจห้องล่างขวาขยายใหญ่ขึ้น (Julian *et al.*, 1987)

จากการทดลองพบว่า การเสริมเมทไธโอนีนในอาหารทำให้น้ำหนักหัวใจของไก่กระทงลดลง แต่อาจเกิดจากคำนวณเป็น % น้ำหนักตัว ซึ่งน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นไม่สามารถบ่งชี้การเกิดโรค Ascites ได้ (Luger, 2001) อย่างไรก็ตาม Shlosberg *et al.* (1992a); Dale, (1990) Julian *et al.* (1989) และ daSilva *et al.* (1988) รายงานว่า รูปแบบและส่วนประกอบของอาหาร เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีส่วนช่วยป้องกันการเกิด Ascites และ Currie (1999) รายงานว่า ลักษณะของหัวใจที่แตกต่างกันสามารถบ่งบอกการเกิด Ascites ได้ โดยลักษณะหัวใจของไก่กระทงที่เป็น Ascites จะขยายใหญ่ขึ้น โดยเฉพาะหัวใจห้องล่างขวาที่ทำหน้าที่สูบฉีดโลหิตจะขยายใหญ่มาก ซึ่งไก่กระทงที่เป็นปกติจะขยายเพียง 20 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ไก่ที่เป็น Ascites สามารถขยายได้ถึง 40 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักหัวใจห้องล่างทั้งหมด

(Government of Alberta, 2004) ในการทดลองครั้งนี้ไม่พบความผิดปกติของหัวใจห้องล่างขวา อาจแสดงให้เห็นว่าไม่เกิดวิการของ Ascites ในไก่กระทง

จากการทำ Cross section ของหัวใจเพื่อศึกษาวิการของ Ascites พบว่า ลักษณะของหัวใจไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่เสริมและไม่เสริมเมทไธโอนีน แสดงว่าการเสริมเมทไธโอนีนในอาหารไม่สามารถบ่งชี้การเกิด Ascites ได้ ซึ่ง Sijun *et al.* (2002) รายงานว่า หากอัตราส่วนระหว่างหัวใจห้องล่างขวา:ห้องล่างทั้งหมด (RV:TV) > 0.30 จะจัดอยู่ในกลุ่มที่เป็น Ascites แต่ถ้า RV:TV 0.27 และไม่มีอาการบวมน้ำ แสดงว่าไม่เป็น Ascites ซึ่งในการทดลองครั้งนี้สัดส่วน RV:TV มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.15 ซึ่งน้อยกว่า 0.27 จึงไม่แสดงวิการของ Ascites เช่นเดียวกับงานทดลองของ Luger *et al.* (2003) ที่ศึกษาน้ำหนักหัวใจ น้ำหนักหัวใจห้องล่างขวา และสัดส่วนของ RV:TV ในไก่กระทงอายุ 5 สัปดาห์ ที่เป็น Ascites พบว่า มีค่าเท่ากับ 0.69 0.24 และ 0.38 ตามลำดับ และกลุ่มที่ปกติ เท่ากับ 0.52 0.09 และ 0.25 ตามลำดับ ซึ่งกลุ่มที่ปกติมีค่าใกล้เคียงกับการทดลองในครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่า แม้ไก่ทดลองจะมีการเจริญเติบโตที่เร็วและสูงกว่ามาตรฐาน แต่ก็ยังไม่แสดงปรากฏการณ์ของ Ascites

ตารางที่ 14 ผลของแหล่งเมทไธโอนีน ต่อลักษณะภาพตัดขวางของหัวใจไก่กระทงอายุ 42 วัน

ลักษณะที่ศึกษา	Basal diet [1/]	DL-Met [1/]	DL-MHA [1/]
น้ำหนักหัวใจ (กรัม)	12.39 ± 0.50	12.04 ± 0.38	13.28 ± 0.40
น้ำหนักหัวใจ (%น้ำหนักตัว)	0.52 ± 0.02 [A]	0.44 ± 0.01 [B]	0.47 ± 0.02 [B]
ความยาว (เซนติเมตร)	4.43 ± 0.09	4.41 ± 0.08	4.51 ± 0.08
ความกว้าง (เซนติเมตร)	2.76 ± 0.05	2.81 ± 0.06	2.89 ± 0.05
น้ำหนักหัวใจล่างขวา (กรัม)	0.97 ± 0.06	0.98 ± 0.05	1.10 ± 0.07
น้ำหนักหัวใจล่างซ้าย (กรัม)	5.33 ± 0.23	5.40 ± 0.13	5.66 ± 0.30
น้ำหนักหัวใจล่างขวา(%น้ำหนักตัว)	0.04 ± 0.003	0.04 ± 0.002	0.04 ± 0.003
น้ำหนักหัวใจล่างซ้าย(%น้ำหนักตัว)	0.22 ± 0.01	0.19±0.01	0.20 ± 0.01
ความหนาหัวใจล่างขวา (มม.)	0.23 ± 0.02	0.23±0.02	0.23 ± 0.02
ความหนาหัวใจล่างซ้าย (มม.)	0.45 ± 0.02	0.44±0.02	0.45 ± 0.02
พื้นที่หัวใจล่างขวา (ตร.มม)	77.65 ± 5.57	81.11±6.84	92.35 ± 7.69
พื้นที่หัวใจล่างซ้าย (ตร.มม)	26.53 ± 1.91	28.71±3.08	28.44 ± 2.23
พื้นที่หัวใจทั้งหมด (ตร.มม)	368.24 ± 12.53	381.1 1± 11.40	400.3 3± 12.65
หัวใจห้องล่างขวา/ห้องล่างทั้งหมด	0.15 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.16± 0.01

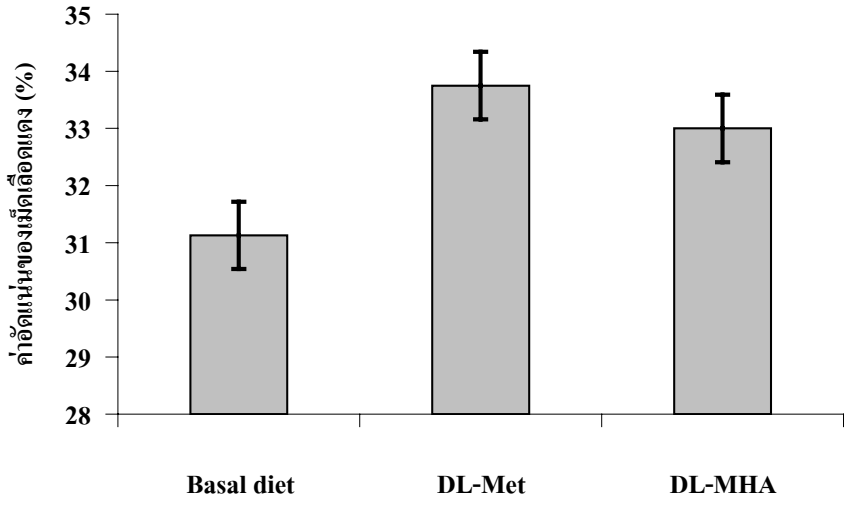
หมายเหตุ [A และ B] อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$)

[1/] ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

N = 18 ตัว/กลุ่ม

3.2 ผลเมทไธโอนีนต่อค่าอัดแน่นของเม็ดเลือดแดง

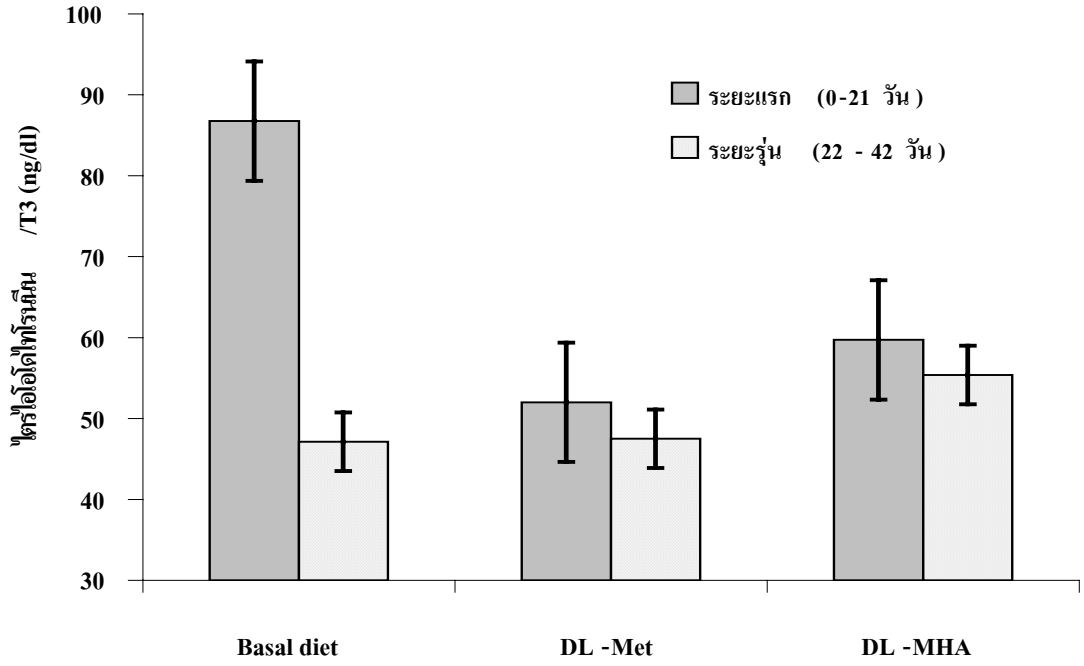
ผลการศึกษาค่าอัดแน่นของเม็ดเลือดแดงไก่กระทงที่กินอาหารขาดเมทไธโอนีนกับกลุ่มที่กินอาหารเสริม DL-Met และ DL-MHA มีค่าเท่ากับ 31.13, 33.75 และ 33.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีค่าเฉลี่ยไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังภาพที่ 14 Luger *et al.* (2001) รายงานว่า ไก่กระทงที่มีวิการของ Ascites จะมีค่าอัดแน่นของเม็ดเลือแดงสูงมากในช่วง 1-2 สัปดาห์ก่อนจะตาย เนื่องจากมีการใช้ก๊าซออกซิเจนเพิ่มมากขึ้น ค่าอัดแน่นของเม็ดเลือแดงและจำนวนเม็ดเลือดแดงจึงเพิ่มขึ้น ทำให้ Blood viscosity สูงขึ้นและผนังหัวใจหนาขึ้น (Witzel *et al.,* 1990) เป็นสาเหตุของการเกิด Pulmonary hypertension หรือ Ascites โดยไก่ที่ปกติจะมีค่า Haematocrit ประมาณ 26-39 เปอร์เซ็นต์ แต่ในไก่ที่เป็น Ascites มีค่าประมาณ 44-54 เปอร์เซ็นต์ (Luger *et al.,* 2003, 2001; Sijun *et al.,* 2002 และ Hernandez, 1987) ซึ่งไก่กระทงในการทดลองครั้งนี้มีค่า Heamatocrit อยู่ในช่วงปกติ ดังนั้นการเสริมหรือไม่เสริมเมทไธโอนีนจึงไม่มีผลต่อการเกิด Ascites



<u>ภาพที่ 14</u> แสดงเมทไธโอนีนต่อค่าอัดแน่นของเม็ดเลือดแดงในไก่กระทงเพศผู้อายุ 42 วัน N = 8 ตัว/กลุ่ม

3.3 ผลเมทไธโอนีนต่อระดับไทรอยด์ฮอร์โมน (T3)

ผลการศึกษาระดับฮอร์โมนไตรไอโอโดไทโรนีน (T3) ในไก่กระทงที่กินอาหารขาดเมทไธโอนีนกับกลุ่มที่กินอาหารเสริม DL-Met และ DL-MHA ในระยะแรก 0 – 21 วัน เท่ากับ 86.75, 52.00 และ 59.71 นาโนกรัม/เดซิลิตร และในระยะ 22 –42 วัน เท่ากับ 47.14 47.50 และ 55.38 นาโนกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ ซึ่งทุกช่วงอายุมีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังภาพที่ 15 ตรงข้ามกับการทดลองของ Carew *et al.* (2003) ที่ศึกษาการเสริมเมทไธโอนีนในอาหารไก่กระทงเปรียบเทียบกับที่ไม่เสริมเมทไธโอนีน พบว่า กลุ่มที่กินอาหารเสริมเมทไธโอนีนมีค่าของฮอร์โมน T3 สูงกว่ากลุ่มขาดเมทไธโอนีน โดยฮอร์โมน Thyroid มีหน้าที่ควบคุม Metabolic rate (Gabarrou *et al,.* 1997 และ Bobek *et al.,* 1977) ซึ่งไตรไอโอโดไทโรนีน (T3) เป็นฮอร์โมนหลักที่ทำหน้าที่กระตุ้น Metabolic rate (Gabarrou *et al.,* 1997 และ McNabb and King, 1993) และส่งเสริมการเจริญเติบโต (Yahav, 2000; Gonzales *et al.,* 1999 และ Carew *et al.,* 1998) นอกจากนี้ฮอร์โมน Thyroid ยังสามารถบ่งชี้การเกิด Ascites ได้ดี โดยเฉพาะในช่วงระยะสุดท้ายของการเลี้ยง ซึ่งไก่กระทงที่มีวิการของ Ascites จะแสดงภาวะ Hypothyroidism คือ มีระดับของฮอร์โมน T3 และ T4 ลดลงในระหว่างสัปดาห์สุดท้ายของการเลี้ยง (Luger *et al.,* 2001) เช่นเดียวกับผลการทดลองที่พบว่า ระดับฮอร์โมน T3 ของไก่กระทงในระยะรุ่น 22-42 วัน มีแนวโน้มสูงกว่าไก่ในระยะแรก 0-21 วัน อาจเนื่องมาจากการเจริญเติบโตในช่วงท้ายที่มีแนวโน้มลดลงกว่าในช่วงระยะแรก



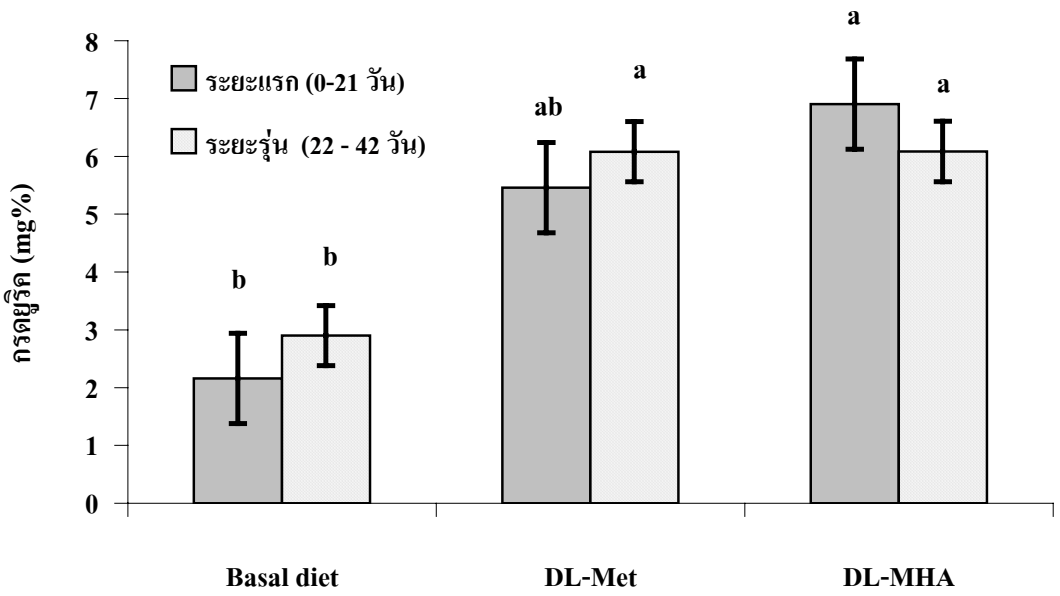
ภาพที่ 15 แสดงแหล่งเมทไธโอนีนต่อระดับฮอร์โมนไตรไอโอโดไทโรนีนในซีรั่มของไก่กระทงเพศผู้ N = 8 ตัว/กลุ่ม

4. <u>อิทธิพลของแหล่งเมทไธโอนีนสังเคราะห์ต่อความเข้มข้นของสารเมแทบอไลท์</u>

4.1 ผลเมทไธโอนีนต่อกรดยูริคในพลาสม่า

ผลการศึกษาระดับกรดยูริคในพลาสม่าของกลุ่มที่เสริม DL-Met และ DL-MHA ที่ระยะแรก 0-21 วัน พบว่า มีค่าไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ 5.46 และ 6.90 mg % ตามลำดับ แม้กลุ่มที่เสริม DL-MHA จะมีแนวโน้มที่สูงกว่า นอกจากนี้ไก่กระทงที่กินอาหารไม่เสริมเมทไธโอนีน มีระดับกรดยูริค เท่ากับ 2.16 mg % ซึ่งต่ำกว่ากลุ่มที่เสริม DL-MHA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่กินอาหาร DL-Met มีค่าไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในภาพที่ 16 เมื่อพิจารณาที่ระยะรุ่น 22-42 วันพบว่า ไก่กระทงที่กินอาหารเสริม DL-Met และ DL-MHA มีระดับกรดยูริคสูงกว่ากลุ่มที่กินอาหารขาดเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่เสริม DL-Met กับ DL-MHA พบว่าระดับกรดยูริคไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งแต่ละกลุ่มมีค่า เท่ากับ 2.90, 6.08 และ 6.08 mg % ตามลำดับ

จากการทดลอง พบว่า ไก่กระทงที่ได้รับอาหารเสริมเมทไธโอนีน มีปริมาณกรดยูริคสูงกว่ากลุ่มที่ขาดเมทไธโอนีน อาจเป็นเพราะปริมาณโปรตีนที่กินมีค่าสูงขึ้นตามปริมาณการกินอาหารที่เพิ่มขึ้น และอาจมีกรดอะมิโนส่วนเกินที่ถูกขับออกมาแล้วกำจัดออกในรูปของกรดยูริค ซึ่งเป็นผลผลิตสุดท้ายของขบวนการสลายไนโตรเจน สอดคล้องกับ Machin *et al.* (2004) และ Karasawa (1986b) รายงานว่า ไก่กระทงที่กินอาหารโปรตีนสูง จะมีความเข้มข้นของกรดยูริคสูงขึ้น ตรงข้ามกับรายงานของ Muramatsu and Okumura (1979) และ Miles and Featherston (1976) ว่าการเสริมกรดอะมิโนที่จำเป็นในอาหารจะช่วยลดการขับไนโตรเจนในรูปของกรดยูริค เมื่อเทียบกับกลุ่มที่กินอาหารขาดกรดอะมิโน นอกจากนี้มีรายงาน Ames *et al.* (1981) ว่ากรดยูริคเป็นสาร Antioxidant ที่สำคัญชนิดหนึ่ง และกรดยูริคที่ความเข้มข้นสูงๆ มีความสำคัญต่อสุขภาพสัตว์ ช่วยลดการเกิด Oxidative stress ในไก่กระทง ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิด Ascites (Currie, 1999 และ Bottje and Wideman, 1995) ดังนั้น ปริมาณกรดยูริคในไก่กระทงที่สูงขึ้นจากการกินอาหารเสริมเมทไธโอนีน อาจมีส่วนช่วยลดการเกิด Ascites ได้ แม้ว่าไก่กระทงในกลุ่มนี้จะมีอัตราการเจริญเติบโตสูงและรวดเร็ว



ภาพที่ 16 แสดงแหล่งเมทไธโอนีนเมทไธโอนีนต่อกรดยูริคในพลาสม่าของไก่กระทงในแต่ละระยะ

[a และ b] อักษรต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

N = 8 ตัว/กลุ่ม

4.2 ผลเมทไธโอนีนต่อไตรกลีเซอไรด์และกรดไขมันอิสระ (NEFA) ในซีรั่ม

ผลการศึกษาระดับไตรกลีเซอไรด์ในไก่กระทงที่กินอาหารไม่เสริมเมทไธโอนีนและกลุ่มที่เสริม DL-Met และ DL-MHA แสดงในตารางที่ 15 ในระยะแรก 0–21วัน มีค่าเท่ากับ 43.53, 49.34 และ 53.18 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ และในระยะ 22-42 มีค่า 45.94, 44.96 และ 46.38 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ ซึ่งในทุกช่วงอายุมีค่าไตรกลีเซอไรด์ไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับระดับกรดไขมันอิสระ (NEFA) ในไก่กระทงที่กินอาหารขาดเมทไธโอนีนและกลุ่มที่เสริม DL-Met และ DL-MHA ในระยะแรก 0–21วัน มีค่าเท่ากับ 0.34, 0.37 และ 0.34 มิลลิโมล/ลิตร ตามลำดับ และในระยะ 22-42 มีค่า 0.40, 0.42 และ 0.40 มิลลิโมล/ลิตร ตามลำดับ ซึ่งในทุกช่วงอายุมีค่าเฉลี่ยไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Anonymous (2002) รายงานว่า สัตว์ที่ขาดเมทไธโอนีนจะมีปริมาณ SAM ซึ่งทำหน้าที่ให้หมู่เมทธิลลดลง เนื่องจากกระบวนการ Methylation ถูกยับยั้ง และการเสริมเมทไธโอนีนทำให้ Acetyl-Co A carboxylase และ Malic enzyme ที่ควบคุมการสังเคราะห์ไขมันในตับมีปริมาณลดลง (Smith *et al.*, 1983) แต่จากการทดลอง พบว่าการเสริมเมทไธโอนีนไม่มีผลต่อกรดไขมันอิสระและไตรกลีเซอไรด์ในซีรั่มไก่กระทง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสัตว์ได้รับพลังงานในอาหารเพียงพอกับความต้องการจึงไม่ต้องดึงพลังงานสำรองในร่างกายออกมาใช้ ซึ่งจะเห็นได้จากปริมาณกรดไขมันอิสระ (NEFA) ที่มีค่าไม่ต่างกันระหว่างกลุ่มที่เสริมและไม่เสริมเมทไธโอนีน โดย Van Saun (2000) รายงานว่าความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระในซีรั่ม จะตอบสนองอย่างรวดเร็วต่อการเปลี่ยนแปลงของพลังงานในอาหาร หรืออาจเป็นเพราะไก่พยายามรักษาระดับของไตรกลีเซอไรด์ไม่ให้สูงเกินไป จนก่อให้เกิดความผิดปกติ เช่น ไขมันอุดตันในเส้นเลือด (Nobel *et al.*, 1986) โดยนำไปสะสมในอวัยวะอื่น เช่น ไขมันช่องท้อง (Adipose tissue) สอดคล้องกับผลการทดลองในภาพที่ 13 ซึ่งพบว่ากลุ่มที่กินอาหารขาดเมทไธโอนีนจะมีการสะสมไขมันช่องท้องมากกว่ากลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีน

ตารางที่ 15 แหล่งเมทไธโอนีนต่อกรดไขมันอิสระ (NEFA)และไตรกลีเซอไรด์ในซีรั่มไก่กระทง

ลักษณะที่ศึกษา	Basal diet [1/]	DL-Met [1/]	DL-MHA [1/]
ระยะแรก (0-21 วัน)			
กรดไขมันอิสระ/NEFA (mmole/l)	0.34 ± 0.01	0.37 ± 0.02	0.34 ± 0.02
ไตรกลีเซอไรด์ (mg/dl)	43.53 ± 2.16	49.34 ± 3.87	53.18 ± 3.30
ระยะรุ่น (22 - 42 วัน)			
กรดไขมันอิสระ/NEFA (mmole/l)	0.40 ± 0.01	0.42 ± 0.01	0.40 ± 0.01
ไตรกลีเซอไรด์ (mg/dl)	45.94 ±3.36	44.96 ± 2.15	46.38 ± 3.26

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

N = 8 ตัว/กลุ่ม

การทดลองที่ 2

1. อิทธิพลของแหล่งเมทไธโอนีนสังเคราะห์ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต

ผลการศึกษาการเสริมเมทไธโอนีนรูป DL-Met และ DL-MHA ในอาหารไก่กระทงบนกรง Metabolic ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต แสดงในตารางที่ 16 พบว่า ในระยะแรก 14-21 วัน ไก่กระทงที่กินอาหารขาดเมทไธโอนีนและเสริม DL-Met และ DL-MHA มีน้ำหนักสิ้นสุด (737.31, 943.94 และ 941.86 กรัม/ตัว) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (398.81, 484.88 และ 478.21 กรัม/ตัว) อัตราการเจริญเติบโต (56.97, 69.27 และ 68.32 กรัม/ตัว/วัน) ปริมาณการกินอาหาร (889.25, 905.13 และ 859.07 กรัม/ตัว) และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (2.23, 1.90 และ 1.80) ตามลำดับ โดยกลุ่มที่กินอาหารเสริม DL-Met และ DL-MHA มีการเจริญเติบโตดีกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีน อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม DL-Met และ DL-MHA พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และในระยะ 35-42 วัน พบว่า น้ำหนักสิ้นสุด เท่ากับ 2109.88, 2766.63 และ 2687.50 กรัม/ตัว ซึ่งกลุ่มที่กินอาหารเสริม DL-Met และ DL-MHA มีค่าดีกว่ากลุ่มที่ขาดเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม DL-Met และ DL-MHA พบว่าไม่แตกต่างทางสถิติ ส่วนลักษณะอื่นๆ ของแต่ละกลุ่มที่ศึกษา พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากผลการเสริมเมทไธโอนีนในอาหารไก่กระทงระยะ 14-21 วัน พบว่า สามารถเพิ่มสมรรถภาพการเจริญเติบโตได้ดีกว่ากลุ่มที่ขาดเมทไธโอนีน เช่นเดียวกับสมรรถภาพการเจริญเติบโตในการทดลองที่ 1 ขณะที่ไก่กระทงระยะ 35-42 วัน การเสริมและไม่เสริมเมทไธโอนีน ไม่มีผลต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของไก่กระทงในระยะนี้ สอดคล้องกับ Whitaker *et al*. (2002) รายงานว่าการเสริมเมทไธโอนีนในอาหารไก่กระทงอายุ 22-42 วัน ไม่สามารถปรับปรุงสมรรถภาพการผลิตเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ขาดเมทไธโอนีน อาจเป็นเพราะไก่ที่อายุมากมีความต้องการเมทไธโอนีนเพื่อการเจริญเติบโตต่ำกว่าไก่ที่อายุน้อยและระยะเวลาที่ใช้ทดลองสั้น โดยพบว่าในระยะแรกของการเสริม DL-Met และ DL-MHA สามารถปรับปรุงน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นได้เท่ากับ 21.58 และ19.91 เปอร์เซ็นต์ และในระยะรุ่นเท่ากับ 9.05 และ 7.06 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ขาดเมทไธโอนีน เช่นเดียวกับ Garlich (1985) Huyghebaert (1993) Rostagno และ Barbosa (1995) ที่รายงานว่าการเพิ่มระดับเมทไธโอนีนสามารถปรับปรุงน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นได้ประมาณ 10-14 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ขาดเมทไธโอนีน โดยจะเห็นได้ว่าไก่กระทงในระยะแรกมีการตอบสนองต่อการขาดเมทไธโอนีนมากกว่าไก่ในระยะ

รุ่น สอดคล้องกับ Bunchasak and Keawarun (2006) ที่รายงานว่า สัตว์ระยะเล็กมีการตอบสนองต่อการขาดสารอาหารมากกว่าสัตว์ที่อายุมากกว่า และการเสริมกรดอะมิโนในอาหารสัตว์ระยะแรกให้สมดุล มีผลกระทบอย่างมากต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตในระยะถัดไป (Friedhelm *et al.,* 2002)

ตารางที่ 16 ผลของแหล่งเมทไธโอนีน ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของไก่กระทงเพศผู้

ลักษณะที่ศึกษา	Basal diet [1/]	DL-Met [1/]	DL-MHA [1/]
ระยะแรก (14-21 วัน)			
น้ำหนักสิ้นสุด (กรัม/ตัว)	737.31 ±9.86 [B]	943.94[A] ± 23.90	941.86[A] ±16.94
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ตัว)	398.81 ±7.66 [B]	484.88[A] ±21.31	478.21[A] ±11.37
อัตราการเจริญเติบโต (กรัม/ตัว/วัน)	56.97 ± 1.09 [B]	69.27[A] ± 3.04	68.32[A] ± 1.62
ปริมาณการกินอาหาร(กรัม/ตัว)	889.25±21.49	905.13 ± 17.80	859.07 ± 26.08
การเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว	2.23 ± 0.06 [A]	1.90 ± 0.12 [B]	1.80 ± 0.05 [B]
ระยะรุ่น (35-42 วัน)			
น้ำหนักสิ้นสุด (กรัม/ตัว)	2109.88 ±29.60 [B]	2766.63 ±45.91 [A]	2687.50 ±31.52 [A]
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ตัว)	640.75±30.31	698.75 ± 30.42	686.25 ± 32.71
อัตราการเจริญเติบโต (กรัม/ตัว/วัน)	91.54 ± 4.33	99.82 ± 4.35	98.04 ± 4.67
ปริมาณการกินอาหาร(กรัม/ตัว)	1157.38±0.16	1062.38 ± 0.13	1091.81 ± 0.08
การเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว	1.85±57.78	1.56 ± 49.73	1.62 ± 33.38

หมายเหตุ [A และ B] อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$)

[1/] ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

N = 8 ตัว/กลุ่ม

2. <u>อิทธิพลของแหล่งเมทไธโอนีนสังเคราะห์ต่อความเป็นกรด – ด่าง</u>

การศึกษาเปรียบเทียบความเป็นกรด-ด่างของเมทไธโอนีนสังเคราะห์ที่ต่างกันในอาหารไก่กระทงเพศผู้ (ตารางที่ 17) พบว่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนและอาหารที่เสริม DL-Met และ DL-MHA ในระยะแรก 0-21 วัน เท่ากับ 5.79, 5.79 และ 5.63 ตามลำดับ และในระยะรุ่น 22-42 วัน มีค่าเท่ากับ 5.79, 5.77 และ 5.70 ตามลำดับ ซึ่งอาหารที่เสริม DL-MHAของทุกช่วงอายุมีความเป็นกรดสูงกว่ากลุ่มที่กินอาหารเสริม DL-Met และกลุ่มที่ขาดเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ขาดเมทไธโอนีนกับกลุ่มที่เสริม DL-Met พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนความเป็นกรด - ด่างในระบบทางเดินอาหาร และมูลมีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ยกเว้นที่ลำไส้เล็กส่วนกลางของไก่ระยะรุ่น 22-42 วัน ซึ่งพบว่ากลุ่มที่กินอาหารขาดเมทไธโอนีนมีความเป็นกรดมากกว่ากลุ่มที่กินอาหารเสริม DL-Met และ DL-MHA อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม DL-Met กับ DL-MHA พบว่าไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีค่าเท่ากับ 5.86, 6.34 และ 6.39 ตามลำดับ

Atapattu and Nelligaswatta (2005) รายงานว่า การเสริมกรดซิตริกในอาหารทำให้ pH ในอาหารลดลง สอดคล้องกับการทดลองที่พบว่า การเสริม DL-MHA ทำให้ pH ในอาหารลดลงจาก 5.79 เป็น 5.63 ซึ่งมีประโยชน์ในการป้องกันการปนเปื้อนของแบคทีเรียในอาหารและช่วยลดค่า Buffering capacity ในอาหารลง โดย Mroz *et al.* (1997) รายงานว่า การเสริม MHA ในอาหารสุกร 0.2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ค่า Buffering capacity ลดลงเฉลี่ย 6-7 เปอร์เซ็นต์ และสภาพที่เป็นกรดอ่อนๆ ทำให้การใช้ประโยชน์ได้ของอาหารมีประสิทธิภาพมากขึ้น (เสกสม, 2547) อย่างไรก็ตาม DL-MHA ในอาหารไม่มีผลต่อระดับ pH ในระบบทางเดินอาหาร (กระเพาะแท้ กระเพาะบด ลำไส้เล็กส่วนต้น ส่วนกลาง) และมูล ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ สัตว์จะรักษาสมดุลของกรด-ด่าง เพื่อให้น้ำย่อยสามารถทำงานได้ปกติ ซึ่งระดับ pH ในลำไส้เล็กถูกควบคุมด้วยน้ำย่อยจากตับอ่อนที่หลั่งออกมาที่ลำไส้ส่วนต้น เพื่อปรับสภาพอาหารที่เป็นกรดจากกระเพาะให้เป็นกลาง (van Kol and Franklin, 2006) สอดคล้องกับ Ribeiro *et al.* (2005) ที่รายงานว่า แหล่งและระดับของเมทไธโอนีนที่ต่างกันไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ pH ในลำไส้เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เช่นเดียวกับ Rislet *et al.* (1992, 1991) และ Straw *et al.* (1991) รายงานว่าความเป็นกรดของ Content ในกระเพาะและลำไส้ไม่เปลี่ยนแปลง แม้ได้กินอาหารที่เป็นกรด อย่างไรก็ตาม Andrys *et al.* (2003) รายงานว่าการเสริมกรดอินทรีย์ในอาหารไก่กระทง ทำให้ pH ของ Content ในกระเพาะพักและกระเพาะบดต่ำกว่ากลุ่มควบคุม เช่นเดียวกับ Thompson and Hinten (1997) รายงาน

ว่าไก่แม่พันธุ์ที่กินอาหารเสริมกรดฟอร์มิกและโปรปีโอนิก มี pH ในกระเพาะพักลดลงมากกว่าระบบทางเดินอาหารส่วนล่าง ดังนั้น การเสริม DL-MHA สามารถลด pH ในอาหารได้ แต่ไม่มีผลต่อ pH ในระบบทางเดินอาหาร แต่เป็นที่น่าสนใจว่าไก่กระทงที่กินอาหารขาดเมทไธโอนีนกลับมี pH ที่ลำไส้เล็กส่วนกลางในระยะรุ่นต่ำกว่ากลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีน ซึ่งยังไม่ทราบกลไกที่ชัดเจน

ตารางที่ 17 ผลของแหล่งเมทไธโอนีนต่อ pH ในอาหาร ระบบทางเดินอาหาร และมูลของไก่กระทง

ลักษณะที่ศึกษา	Basal diet [1/]	DL-Met [1/]	DL-MHA [1/]
ระยะแรก (14-21 วัน)			
อาหาร	5.79 ± 0.01 [A]	5.79 ± 0.01 [A]	5.63 ± 0.01 [B]
กระเพาะแท้	3.48 ± 0.25	3.84 ± 0.37	3.61 ± 0.20
กระเพาะบด	3.51 ± 0.13	3.87 ± 0.18	3.68 ± 0.20
ลำไส้เล็กส่วนต้น	6.15 ±0.06	6.04 ± 0.09	5.96 ± 0.12
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	6.12 ± 0.05	6.13 ± 0.03	6.13 ± 0.03
มูล	5.70 ± 0.10	5.53 ± 0.03	5.57 ± 0.07
ระยะรุ่น (35 - 42 วัน)			
อาหาร	5.79 ± 0.004 [A]	5.77 ± 0.01 [A]	5.70 ± 0.01 [B]
กระเพาะแท้	4.04 ± 0.19	4.47 ± 0.21	4.56 ± 0.23
กระเพาะบด	3.98 ± 0.15	4.29 ± 0.11	3.96 ± 0.20
ลำไส้เล็กส่วนต้น	5.80 ± 0.16	5.89 ± 0.06	5.99 ± 0.07
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	5.86[B] ± 0.10	6.34[A] ± 0.07	6.39[A] ± 0.08
มูล	5.67 ± 0.07	5.62 ± 0.08	5.63 ± 0.07

หมายเหตุ [A และ B] อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$)

[1/] ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

N = 8 ตัว/กลุ่ม

3. <u>อิทธิพลของแหล่งเมทไธโอนีนสังเคราะห์ต่อลักษณะอวัยวะภายใน</u>

3.1 ผลต่อน้ำหนักอวัยวะภายใน

ผลการศึกษาแหล่งเมทไธโอนีนที่ต่างกันในไก่กระทงต่อน้ำหนักอวัยวะภายใน พบว่า ในระยะแรก 0-21 วัน การเสริมเมทไธโอนีนมีผลต่อน้ำหนักลำไส้เล็กส่วนปลาย (1.52, 1.32 และ 1.29 % น้ำหนักตัว) ไส้ติ่ง (0.67, 0.54 และ 0.57 %น้ำหนักตัว) และตับอ่อน (0.41, 0.33 และ 0.44 %น้ำหนักตัว) ตามลำดับ โดยมีน้ำหนักมากกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีน แต่รูปแบบเมทไธโอนีนที่ต่างกันไม่มีผลต่อน้ำหนักอวัยวะภายในของไก่กระทง สำหรับน้ำหนักอวัยวะส่วนอื่นๆ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติ การเสริมเมทไธโอนีนมีผลไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากกลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีน ดังตารางที่ 18

เมื่อพิจารณาระยะรุ่น 22–42 วัน พบว่ากลุ่มที่กินเมทไธโอนีนสังเคราะห์ที่ต่างกัน ทั้งสองแหล่งมีน้ำหนักกระเพาะบด และม้ามต่ำกว่ากลุ่มไม่เสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีนในรูป DL-Met กับ DL-MHA พบว่า ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งน้ำหนักกระเพาะบด เท่ากับ 1.27, 0.96 และ 0.95 %น้ำหนักตัว และน้ำหนักม้าม เท่ากับ 0.16, 0.13 และ 0.12 %น้ำหนักตัว ตามลำดับ ส่วนน้ำหนักอวัยวะภายในส่วนอื่นๆ มีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังตารางที่ 19

จากผลการทดลองพบว่า ไก่กระทงที่กินอาหารขาดเมทไธโอนีนมีน้ำหนักของตับอ่อน ลำไส้เล็กส่วนปลาย ไส้ติ่ง กระเพาะบด และม้าม สูงกว่ากลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะน้ำหนักตัวที่ต่างกันหรือสัตว์พยายามที่จะย่อยและดูดซึมอาหารมาใช้ประโยชน์ให้มากที่สุด ทำให้อวัยวะเหล่านี้ต้องทำงานหนักมากขึ้น โดย Zubair and Leeson (1994) รายงานว่า การจำกัดอาหารไก่กระทงทำให้น้ำหนักอวัยวะภายในเพิ่มมากขึ้น เช่นเดียวกับ Harry *et al.* (2002) รายงานว่าไก่กระทงที่กินอาหารโปรตีนสูงจะมีน้ำหนักของตับอ่อนสูงขึ้น เพราะต้องหลั่งน้ำย่อยเพื่อย่อยโปรตีนที่มีปริมาณสูงขึ้น นอกจากนี้ในสัตว์ระยะเล็ก ที่กินอาหารไม่สมดุลจะมีประสิทธิภาพการย่อยได้ต่ำ มีสารอาหารผ่านมาถึงระบบทางเดินอาหารส่วนท้ายมากและเกิดการหมักโดยจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารมากขึ้น (Hassan *et al.* 2006) ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้ ไส้ติ่งมีขนาดใหญ่ขึ้น เพราะฉะนั้นขนาดของน้ำหนักอวัยวะภายในที่แตกต่างกันอาจเกิดจากปัจจัยของอาหาร โดยอาหารที่ขาดสมดุลของกรดอะมิโนมีผลทำให้น้ำหนักของตับอ่อนและกระเพาะบดสูงขึ้น (Harry *et al.,* 2002) เช่นเดียวกับ Nir *et al.* (1994a) Nir *et al.* (1995) และ

Magro (1999) รายงานว่าไก่ที่กินอาหารที่มีคุณภาพดี มีผลทำให้ขนาดของกระเพาะบดเล็กลงและลำไส้มีการขยายเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม Iji *et al.* (2001) และ Tan (1999) รายงานว่า การกินอาหารที่ขาดความสมดุลไม่มีผลต่อน้ำหนักอวัยวะภายใน เนื่องจากอวัยวะภายในของสัตว์มีการพัฒนาตั้งแต่ช่วงระยะแรก ดังนั้นไก่กระทงที่กินอาหารไม่สมดุลจะมีน้ำหนักของอวัยวะภายในสูงขึ้น แม้ว่าอวัยวะภายในบางส่วนจะไม่แตกต่างจากกลุ่มที่มีอาหารสมดุล ขณะที่กล้ามเนื้อลายได้รับผลกระทบจากการขาดสารอาหารมากกว่า โดยเฉพาะระยะกำลังเจริญเติบโต

ตารางที่ 18 ผลของแหล่งเมทไธโอนีนต่อน้ำหนักอวัยวะภายในของไก่กระทงระยะแรก (%น้ำหนักตัว)

ลักษณะที่ศึกษา	Basal diet [1/]	DL-Met [1/]	DL-MHA [1/]
กระเพาะบด	2.15 ± 0.12	1.82 ± 0.07	2.02 ± 0.09
กระเพาะแท้	0.67 ± 0.04	0.63 ± 0.06	0.68 ± 0.10
ลำไส้เล็กส่วนต้น	0.84 ± 0.05	0.83 ± 0.67	0.79 ± 0.71
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	1.89 ± 0.15	1.65 ± 0.11	1.57 ± 0.08
ลำไส้เล็กส่วนปลาย	1.52 ± 0.09 [a]	1.32 ± 0.05 [b]	1.29 ± 0.04 [b]
ไส้ติ่ง	0.67 ± 0.04 [a]	0.54 ± 0.03 [b]	0.57± 0.04 [b]
ไส้ตรง	0.25 ± 0.02	0.28 ± 0.01	0.24 ± 0.01
ม้าม	0.10 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.11 ± 0.01
หัวใจ	0.97 ± 0.06	0.88 ± 0.02	0.87 ± 0.04
ตับอ่อน	0.41 ± 0.01[A]	0.33 ± 0.01[B]	0.34 ± 0.02[B]
ไขมันช่องท้อง	0.78 ± 0.08	0.60 ± 0.06	0.68 ± 0.07

หมายเหตุ [a และ b] อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

[A และ B] อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$)

[1/] ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

N = 8 ตัว/กลุ่ม

ตารางที่ 19 ผลของแหล่งเมทไธโอนีนต่อน้ำหนักอวัยวะภายในของไก่กระทงระยะรุ่น (% น้ำหนักตัว)

ลักษณะที่ศึกษา	Basal diet [1/]	DL-Met [1/]	DL-MHA [1/]
กระเพาะบด	1.27 ± 0.08 [a]	0.96 ± 0.13 [b]	0.95 ± 0.06 [b]
กระเพาะแท้	0.47 ± 0.02	0.46 ± 0.09	0.38 ± 0.02
ลำไส้เล็กส่วนต้น	0.55 ± 0.04	0.44 ± 0.04	0.44 ± 0.03
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	1.18 ± 0.04	1.03 ± 0.08	1.04 ± 0.03
ลำไส้เล็กส่วนปลาย	0.93 ± 0.04	0.91 ± 0.06	0.87 ± 0.04
ไส้ติ่ง	0.43 ± 0.03	0.42 ± 0.06	0.41 ± 0.01
ไส้ตรง	0.17 ± 0.01	0.18 ± 0.04	0.17 ± 0.01
ตับอ่อน	0.25 ± 0.02	0.23 ± 0.03	0.18 ± 0.01
ม้าม	0.16 ± 0.01 [a]	0.13 ± 0.01 [b]	0.12 ± 0.01 [b]
หัวใจ	0.70 ± 0.04	0.56 ± 0.06	0.58 ± 0.01
ตับอ่อน	0.25 ± 0.02	0.23 ± 0.03	0.18 ± 0.01
ไขมันช่องท้อง	1.76 ± 0.05	1.56 ± 0.08	1.55 ± 0.06

หมายเหตุ [a และ b] อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

[1/] ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

N = 8 ตัว/กลุ่ม

3.2 ผลเมทไธโอนีนต่อความยาวอวัยวะภายใน

จากการศึกษา พบว่า ในระยะแรก 0 - 21 วัน เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าไก่กระทงที่กินอาหารเสริมและไม่เสริมเมทไธโอนีนไม่มีผลต่อความยาวของอวัยวะภายใน และระยะรุ่น 22-42 วัน พบว่า ความยาวลำไส้เล็กส่วนกลางของกลุ่มที่กินอาหารเสริมเมทไธโอนีนทั้ง 2 แบบมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ความยาวของกลุ่มที่เสริม DL-Met มีค่ามากกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ไม่เสริมกับกลุ่มที่เสริมแบบ DL-MHA พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับความยาวอวัยวะส่วนอื่นๆ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติ การเสริมเมทไธโอนีนมีผลไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ขาดเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 20

จากผลการทดลองพบว่า การเสริมและไม่เสริมเมทไธโอนีนไม่มีผลต่อความยาวของอวัยวะภายใน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะอัตราการไหลผ่านของอาหารในทางเดินอาหารไม่ต่างกัน ซึ่งอัตราการไหลผ่านของอาหารมีผลต่อความยาวของระบบทางเดินอาหาร สอดคล้องกับ Denbow (2000) รายงานว่า ไก่กระทงที่กินอาหารที่มี Fiber อยู่สูงจะมีแนวโน้มทำให้ระบบทางเดินอาหารยาวขึ้น สอดคล้องกับผลการทดลอง นอกจากนี้การเสริมเมทไธโอนีนทั้ง 2 รูปแบบ ทำให้ความยาวของลำไส้เล็กส่วนกลางเพิ่มขึ้น ซึ่ง Pan *et al.* (2001) รายงานว่า เมทไธโอนีนมีการดูดซึมที่ลำไส้เล็กส่วนกลาง ดังนั้น ลำไส้เล็กส่วนกลางจึงยาวมากขึ้น เพื่อเพิ่มการดูดซึมสารอาหารไปใช้ประโยชน์

ตารางที่ 20 ผลของแหล่งเมทไธโอนีน ต่อความยาวอวัยวะภายในของไก่กระทง

ลักษณะที่ศึกษา (เซนติเมตร)	Basal diet [1/]	DL-Met [1/]	DL-MHA [1/]
ระยะแรก (14-21 วัน)			
กระเพาะแท้	3.94 ± 0.17	4.06 ± 0.20	4.40 ± 0.27
ลำไส้เล็กส่วนต้น	24.65 ± 0.78	26.69 ± 1.02	25.21 ± 1.69
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	56.50 ± 1.40	56.88 ± 2.49	57.07 ± 1.56
ลำไส้เล็กส่วนปลาย	54.88 ± 1.68	59.00 ± 2.59	59.07 ± 1.67
ไส้ติ่ง	12.44 ± 0.43	13.06 ± 0.63	13.11 ± 0.35
ไส้ตรง	5.08± 0.38	6.06± 0.15	6.31± 0.47
ตับอ่อน	8.81 ± 0.30	8.38 ± 0.30	9.36 ± 0.70
ระยะรุ่น (35-42 วัน)			
กระเพาะแท้	5.16 ± 0.19	5.09 ± 0.07	5.04 ± 0.15
ลำไส้เล็กส่วนต้น	31.78 ± 1.43	31.00 ± 0.88	31.33 ± 2.34
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	67.95± 2.08 [b]	77.94± 2.73 [a]	72.50± 2.48 [ab]
ลำไส้เล็กส่วนปลาย	69.25 ± 1.93	76.50 ± 3.40	67.45 ± 3.50
ไส้ติ่ง	16.68 ± 0.68	16.48 ± 0.50	16.68 ± 0.59
ไส้ตรง	6.49 ± 0.33	6.90 ± 0.16	7.15 ± 0.34
ตับอ่อน	10.25 ± 0.31	10.40 ± 0.34	10.38 ± 0.55

หมายเหตุ [a และ b] อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

[1/] ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

N = 8 ตัว/กลุ่ม

4. <u>อิทธิพลของแหล่งเมทไธโอนีนสังเคราะห์ต่อการสะสมแร่ธาตุในกระดูก</u>

ผลการศึกษาการเสริม DL-Met และ DL-MHA ในอาหารไก่กระทงต่อการสะสมแร่ธาตุในกระดูก (ตารางที่ 21) พบว่า ไก่ที่กินอาหารขาดเมทไธโอนีนและเสริม DL-Met และ DL-MHA ในระยะแรก 14-21 วัน มีน้ำหนักกระดูก เท่ากับ 4.59, 5.85 และ 5.56 กรัม ตามลำดับ โดยกลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีนทั้ง 2 รูปแบบมีน้ำหนักสูงกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) แต่น้ำหนักกระดูก Tibia ของกลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีนทั้ง 2 รูปแบบ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้พบว่าไก่กระทงที่กินอาหารเสริมเมทไธโอนีนทั้ง 2 แบบมีการสะสมแคลเซียมและฟอสฟอรัสเมื่อคำนวณเป็นกรัมมากกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) ซึ่งมีค่าเท่ากับ (0.76, 0.97 และ 0.93 กรัม) และ (0.43, 0.54 และ 0.54 กรัม) ตามลำดับ แต่เมื่อคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์พบว่ามีค่าไม่แตกต่างกันทางอย่างมีนัยสำคัญสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบทั้ง 2 รูปแบบ พบว่าน้ำหนักกระดูก Tibia ของทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกันทางอย่างมีนัยสำคัญสถิติ

ในระยะรุ่น 35-42 วัน (ตารางที่ 22) น้ำหนักกระดูก เท่ากับ 12.29, 15.45 และ 15.86 กรัม ตามลำดับ โดยกลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีนทั้ง 2 รูปมีน้ำหนักสูงกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) แต่การเสริมเมทไธโอนีนทั้ง 2 รูปไม่ทำให้น้ำหนักกระดูก Tibia ของทั้ง 2 กลุ่มแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการสะสมโปรตีนของกลุ่มที่เสริม DL-Met และ DL-MHA มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 5.45 และ 5.40 กรัม ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 2 กลุ่มมีการสะสมมากกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4.21 กรัม นอกจากนี้ไก่กระทงที่กินอาหารเสริมเมทไธโอนีนทั้ง 2 รูป มีการสะสมแคลเซียมและฟอสฟอรัสมากกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีน ซึ่งมีค่าเท่ากับ (2.23, 2.85 และ 2.99 กรัม) และ (1.34, 1.65 และ 1.64 กรัม) ตามลำดับ แต่เมื่อเปรียบเทียบทั้ง 2 รูป พบว่าน้ำหนักกระดูก Tibia ของทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อนำกระดูก Tibia ของแต่ละกลุ่มมาวัดความแข็งของกระดูก เท่ากับ 104.08, 106.98 และ 132.56 kgc ตามลำดับ พบว่า ไก่กระทงที่กินอาหารเสริม DL-MHA มีความแข็งของกระดูกมากกว่ากลุ่มที่เสริม DL-Met และกลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่เสริม DL-Met กับ กลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีน มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

จากผลการทดลองพบว่า การเสริมเมทไธโอนีนทำให้น้ำหนักของกระดูก Tibia สูงกว่ากลุ่มที่ขาดเมทไธโอนีน เนื่องจากมีการสะสมโปรตีน แคลเซียม และฟอสฟอรัสมากขึ้น ส่งผลให้กระดูกมีความแข็งแรงมากขึ้นโดยเฉพาะไก่กระทงที่กินอาหารเสริมเมทไธโอนีนในรูป DL-MHA และเมื่อวัดความแข็งของกระดูกพบว่า ไก่กระทงที่กินอาหารเสริม DL-MHA มีความแข็งของกระดูกมากกว่ากลุ่มที่กินอาหารขาดเมทไธโอนีนและกลุ่มที่เสริม DL-Met โดยแคลเซียมและฟอสฟอรัสที่สะสมในกระดูก ช่วยสร้างความแข็งแรงแก่โครงสร้างของร่างกาย (Mchenry and George, 1963) ทั้งนี้กระดูกจะมีการสะสมแคลเซียมประมาณ 99 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณแคลเซียมทั้งหมดในร่างกาย (Davidson and Passmoree, 1969) และมีการสะสมฟอสฟอรัส 80 เปอร์เซ็นต์ (Williams and Pujol, 2001) ซึ่งการสะสมแคลเซียม และฟอสฟอรัสในกระดูกขึ้นกับการละลายของแร่ธาตุทั้ง 2 ในกระเพาะ (Irving, 1964) และการดูดซึมที่สำไส้เล็กส่วนต้น (Peo, 1991 และ McDowell, 1992) ด้วยวิธี Active transport และ Diffusion (พัชรา และ สุพรพิมพ์, 2533) นอกจากนี้การละลายและการดูดซึมจะสูงมากขึ้นเมื่อมี pH ต่ำ และอัตราส่วนระหว่างแคลเซียมและฟอสฟอรัสมีความสมดุล สอดคล้องกับ บุญล้อม (2546) ที่กล่าวว่าระดับ pH ในทางเดินอาหารที่ลดต่ำลง ช่วยทำให้การดูดซึมแร่ธาตุดีขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่ง แคลเซียม แมกนีเซียม และสังกะสี เช่นเดียวกับ Burnell *et al.* (1990) รายงานว่าภายใต้สภาวะความเป็นกรด จะทำให้แคลเซียมและฟอสฟอรัสละลายได้ดีขึ้น ซึ่งตรงข้ามกับผลการทดลองที่พบว่า pH ที่ลดต่ำลงไม่มีผลต่อปริมาณการสะสมแคลเซียม ดังนั้น การเสริมเมทไธโอนีนในอาหารทำให้การสะสมแร่ธาตุและโปรตีนในกระดูก Tibia เพิ่มขึ้นเมื่อคำนวณเป็นกรัม เพราะกลุ่มที่กินอาหารเสริมเมทไธโอนีนมีน้ำหนักกระดูกที่สูงขึ้น แต่เมื่อคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งอาจเป็นเพราะ ระดับ pH ของการเสริมเมทไธโอนีนไม่ลดลง และมีแนวโน้มสูงขึ้นซึ่งไม่สามารถสรุปได้ว่ามีกลไกเป็นอย่างไร

ตารางที่ 21 ผลของแหล่งเมทไธโอนีนต่อการสะสมแร่ธาตุในกระดูก Tibia ของไก่กระทงระยะแรก

ลักษณะที่ศึกษา	Basal diet [1/]	DL-Met [1/]	DL-MHA [1/]
น้ำหนักกระดูก (กรัม)	4.59 ± 0.27 [B]	5.85 ± 0.26 [A]	5.56 ± 0.24 [A]
แคลเซียม (กรัม) **	0.76 ± 0.05 [b]	0.97 ± 0.05 [a]	0.93 ± 0.05 [a]
แคลเซียม (เปอร์เซ็นต์) **	16.63 ± 0.59	16.28 ± 0.64	16.72 ± 0.35
ฟอสฟอรัสทั้งหมด (กรัม) **	0.43 ± 0.03 [b]	0.54 ± 0.03 [a]	0.54 ± 0.03 [a]
ฟอสฟอรัสทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์) **	9.45 ± 0.35	9.13 ± 0.41	9.65 ± 0.14

หมายเหตุ [a และ b] อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

[A และ B] อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$)

[1/] ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

** ข้อมูลแสดงในรูปวัตถุแห้ง (Dry matter)

N = 8 ตัว/กลุ่ม

ตารางที่ 22 ผลของแหล่งเมทไธโอนีนการสะสมแร่ธาตุในกระดูก Tibia ของไก่กระทงระยะรุ่น

ลักษณะที่ศึกษา	Basal diet [1/]	DL-Met [1/]	DL-MHA [1/]
น้ำหนักกระดูก (กรัม)	12.29 ± 0.51 [B]	15.45 ± 0.77 [A]	15.86 ± 0.42 [A]
โปรตีน (กรัม)	4.21 ± 0.20 [B]	5.45 ± 0.30 [A]	5.40 ± 0.17 [A]
โปรตีน (เปอร์เซ็นต์)	34.24 ± 0.34	35.27 ± 0.74	34.06 ± 0.42
แคลเซียม (กรัม) **	2.23 ± 0.14 [B]	2.85 ± 0.12 [A]	2.99 ± 0.06 [A]
แคลเซียม (เปอร์เซ็นต์) **	18.07 ± 0.60	18.54 ± 0.29	18.98 ± 0.33
ฟอสฟอรัสทั้งหมด (กรัม) **	1.34 ± 0.06 [b]	1.65 ± 0.08 [a]	1.64 ± 0.10 [a]
ฟอสฟอรัสทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์) **	10.93 ± 0.42	10.66 ± 0.27	10.27 ± 0.43
ความแข็งของกระดูก (kgc)	104.08 ± 6.46 [b]	106.98 ± 8.39 [b]	132.56 ±6.28 [a]

หมายเหตุ [a และ b] อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

[A และ B] อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$)

[1/] ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

** ข้อมูลแสดงในรูปวัตถุแห้ง (Dry matter)

N = 8 ตัว/กลุ่ม

5. อิทธิพลของแหล่งเมทไธโอนีนสังเคราะห์ต่อการใช้ประโยชน์ของสารอาหาร

5.1 ผลเมทไธโอนีนต่อองค์ประกอบทางเคมีในมูล

ผลจากการวิเคราะห์ทางสถิติของแหล่งเมทไธโอนีนสังเคราะห์ที่ต่างกันในอาหารไก่กระทงเพศผู้ ต่อองค์ประกอบทางเคมีในมูล แสดงในตารางที่ 23 พบว่า ไก่กระทงที่กินอาหารแบบไม่เสริมเมทไธโอนีนและเสริม DL-Met และ DL-MHA มีปริมาณมูล เท่ากับ 830.94, 1068.31 และ 894.56 กรัม/ตัว ตามลำดับ โดยไก่กระทงที่กินอาหารเสริมเมทไธโอนีนในรูป DL-Met และ DL-MHA มีปริมาณมูล มากกว่ากลุ่มที่กินอาหารแบบไม่เสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีนในรูป DL-Met กับ DL-MHA พบว่า ปริมาณมูลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากปริมาณมูลที่แตกต่างกันมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์เถ้า ของกลุ่มที่เสริม DL-MHA มีค่าเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีน และกลุ่มที่เสริม DL-Met อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4.29 4.29 และ 4.96 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่า เปอร์เซ็นต์โปรตีนของกลุ่มที่เสริม DL-Met มีค่าเฉลี่ยต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีน และกลุ่มที่เสริม DL-MHA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 11.69, 8.29 และ 10.77 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่เสริม DL-MHA กับกลุ่ที่ขาดเมทไธโอนีน พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนองค์ประกอบอื่นๆ ในมูลของแต่ละกลุ่มที่ศึกษา พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากผลการทดลอง พบว่า ไก่กระทงที่กินอาหารเสริมเมทไธโอนีน มีปริมาณมูลที่ถ่ายออกมาสูงกว่ากลุ่มที่กินอาหารขาดเมทไธโอนีน เนื่องจากมีปริมาณการกินอาหารสูงกว่า จึงมีมูลที่ขับออกมาเพิ่มมากขึ้น เมื่อพิจารณาผลของปริมาณเถ้าซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงปริมาณสารอนินทรีย์ (ดวงสมร และ อังคณา, 2532) พบว่ากลุ่มที่กินอาหารแบบ DL-MHA มีปริมาณเถ้าสูงกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนและเสริม DL-Met ทั้งนี้อาจเป็นเพราะปริมาณสารอนินทรีย์ในอาหารที่ pH ต่ำมีอัตราการละลายออกมามากกว่าการดูดซึมไปใช้ประโยชน์ แม้ว่าปริมาณแคลเซียมและฟอสฟอรัสในมูลจะมีปริมาณไม่ต่างกัน แต่สารอนินทรีย์ยังประกอบด้วยแร่ธาตุอื่นๆ อีกหลายชนิด สอดคล้องกับ เนติกานต์ (2549) รายงานว่าการเสริม MHA ในอาหารไก่กระทง ทำให้เถ้าในมูลสูงกว่าการเสริม DL-Met และกลุ่มควบคุม นอกจาก

นี้การเสริม DL-Met มีผลทำให้โปรตีนในมูลต่ำกว่ากลุ่มที่เสริม DL-MHA และกลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีน อาจเนื่องมาจากอัตราการดูดซึมโปรตีนและกรดอะมิโนไปใช้ประโยชน์ได้ต่างกัน โดย Maenz and Engele-Schaan (1996a) รายงานว่า DL-Met กับ MHA มีกลไกการดูดซึมต่างกัน แต่ DL-Met มีการดูดซึมในทางเดินอาหารดีกว่ากลุ่ม MHA ซึ่งอัตราการดูดซึม DL-Met ไปใช้ประโยชน์ เท่ากับ 99.7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่า DL-MHA ที่มีการดูดซึมที่ 98.9 เปอร์เซ็นต์ (Han *et al.,* 1990) จึงทำให้โปรตีนในมูลของไก่กระทงที่กิน DL-MHA มีปริมาณสูง

ตารางที่ 23 ผลของแหล่งเมทไธโอนีน ต่อองค์ประกอบทางเคมีในมูลของไก่กระทงอายุ 35 - 42 วัน

ลักษณะที่ศึกษา	Basal diet [1/]	DL-Met [1/]	DL-MHA [1/]
ปริมาณมูล (กรัม/ตัว)	830.94 ± 50.24 [B]	1068.31±46.60 [A]	894.56 ± 33.50 [A]
ความชื้น (เปอร์เซ็นต์)	69.70 ± 2.11	71.93 ± 0.81	68.31 ± 0.34
วัตถุแห้ง (เปอร์เซ็นต์)	30.30 ± 2.11	28.07 ± 0.81	31.69 ± 0.34
เถ้า (เปอร์เซ็นต์)	4.29 ± 0.35 [b]	4.29 ± 0.11 [b]	4.96 ± 0.08 [a]
โปรตีน (เปอร์เซ็นต์)	11.69 ± 1.04 [a]	8.29± 0.41 [b]	10.77± 0.79 [a]
ไขมัน (เปอร์เซ็นต์)	0.78 ± 0.15	0.62 ± 0.14	0.62 ± 0.21
แคลเซียม (เปอร์เซ็นต์)	1.12 ± 0.08	1.68 ± 0.03	1.02 ± 0.05
ฟอสฟอรัสทั้งหมด (%)	0.67 ± 0.05	0.64 ± 0.02	0.67 ± 0.02

หมายเหตุ [a และ b] อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

[A และ B] อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$)

[1/] ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

N = 8 ตัว/กลุ่ม

5.2 ผลของแหล่งเมทไธโอนีนต่อการใช้ประโยชน์ได้ของสารอาหารในมูล

ก. การใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนและไขมัน

ผลการทดลองเลี้ยงไก่กระทงต่อปริมาณโปรตีนที่กิน ปริมาณโปรตีนที่ขับออก และการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนในมูลของไก่ที่กินอาหาร 3 กลุ่ม (ตารางที่ 24) คือ กลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนกับกลุ่มที่เสริม DL-Met และ DL-MHA เท่ากับ (238.65, 216.74 และ 222.73 กรัม/ตัว) (94.91, 91.03 และ 95.02 กรัม/ตัว) และ (59.46, 56.16 และ 57.09 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ ซึ่งไก่กระทงทั้ง 3 กลุ่มมีการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อพิจารณาแหล่งของเมทไธโอนีนที่ต่างกัน 2 แหล่งในอาหารไก่กระทงต่อปริมาณไขมันที่กิน ปริมาณไขมันที่ขับออก และการใช้ประโยชน์ได้ของไขมันในมูล พบว่าค่าเฉลี่ยของกลุ่มที่กินอาหารเสริมเมทไธโอนีนและขาดเมทไธโอนีน มีปริมาณไขมันที่กิน ปริมาณไขมันที่ขับออกและการใช้ประโยชน์ได้ของไขมันในมูลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งมีค่าเท่ากับ (94.88, 86.16 และ 88.55 กรัม/ตัว) (6.30, 6.55 และ 5.59 กรัม/ตัว) และ (93.08, 91.98 และ 94.00 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ

Hiramoto *et al.* (1990) และ Edmonds *et al.* (1985) รายงานว่า ไก่กระทงที่ได้รับกรดอะมิโนเมทไธโอนีนไม่เพียงพอกับความต้องการ จะจำกัดการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนลดลง การเจริญเติบโตช้าและสมดุลไนโตรเจนเปลี่ยนไป (Kino and Okumura, 1986) แต่จากการทดลอง พบว่ากลุ่มที่ขาดเมทไธโอนีนมีโปรตีนที่ใช้ประโยชน์ได้ไม่ต่างจากกลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีน แม้จะมีปริมาณโปรตีนที่ขับออกสูงกว่า ทั้งนี้อาจเป็นเพราะไก่กระทงที่กินอาหารขาดเมทไธโอนีนมีปริมาณการกินอาหารสูงกว่ากลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีนจึงส่งผลต่อปริมาณโปรตีนที่กินมากขึ้นา ทำให้การใช้ประโยชน์ของโปรตีนไม่ต่างกัน เนื่องจากการใช้ประโยชน์ได้คำนวณจาก (ปริมาณโปรตีนกิน – ปริมาณโปรตีนขับออก)/ (ปริมาณโปรตีนกิน×100) ซึ่งทั้งสองมีความสัมพันธ์กัน นอกจากนี้การเสริมและไม่เสริมเมทไธโอนีนไม่มีผลต่อการใช้ประโยชน์ได้ของไขมัน แต่การเสริม DL-MHA มีแนวโน้มการใช้ประโยชน์ได้ของไขมันสูงกว่ากลุ่มอื่น ซึ่งไขมันที่ใช้ประโยชน์ได้มากขึ้นทำให้การสะสมไขมันในร่างกายลดลง (Jensen *et al.,* 1989)

ตารางที่ 24 การใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนและไขมันในมูลของไก่กระทงอายุ 35 - 42 วัน

ลักษณะที่ศึกษา	Basal diet [1/]	DL-Met [1/]	DL-MHA [1/]
ปริมาณโปรตีนที่กิน (กรัม/ตัว)	238.65±11.83	216.74±10.15	222.73±6.81
ปริมาณโปรตีนขับออก (กรัม/ตัว)	94.91 ± 6.95	91.03 ± 5.89	95.02 ± 4.84
โปรตีนที่ใช้ประโยชน์ได้ (%)	59.46 ±3.67	56.16 ±4.48	57.09 ±2.51
ปริมาณไขมันที่กิน (กรัม/ตัว)	94.88±4.70	86.16±4.03	88.55±2.71
ปริมาณไขมันขับออก (กรัม/ตัว)	6.30 ± 1.32	6.55 ± 1.35	5.59 ± 2.06
ไขมันที่ใช้ประโยชน์ได้ (%)	93.08±1.66	91.98±1.71	94.00±2.10

หมายเหตุ [1/]* ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

N = 8 ตัว/กลุ่ม

ข. การใช้ประโยชน์ได้ของแคลเซียมและฟอสฟอรัส

ผลการทดลองการเลี้ยงไก่กระทงที่กินอาหารขาดเมทไธโอนีนกับกลุ่มที่เสริม DL-Met และ DL-MHA ต่อปริมาณแคลเซียมที่กิน (18.72 17.00 และ 17.47 กรัม/ตัว) ปริมาณแคลเซียมที่ขับออก (9.04 10.83 และ 10.42 กรัม/ตัว) และการใช้ประโยชน์ได้ของแคลเซียมในมูล (51.22 34.79 และ 39.86 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ (ตารางที่ 25) พบว่า ไก่กระทงทั้ง 3 กลุ่ม มีปริมาณการกินแคลเซียมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ปริมาณแคลเซียมที่ขับออกมีค่าแตกต่างกัน จึงทำให้การใช้ประโยชน์ได้ของแคลเซียมแตกต่างกัน โดยกลุ่มที่กินอาหารเสริมเมทไธโอนีนแบบ DL-Met มีการใช้ประโยชน์ของแคลเซียมต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ไม่ต่างจากกลุ่มที่กินอาหารเสริม DL-MHA และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม DL-MHA กับกลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อพิจารณาการเลี้ยงไก่กระทงที่ได้รับอาหารเสริมเมทไธโอนีนจาก 2 แหล่ง ดังแสดงในตารางที่ 25 พบว่า กลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนกับกลุ่มที่เสริม DL-Met และ DL-MHA มีปริมาณฟอสฟอรัสที่กินเท่ากับ (9.36 8.50 และ 8.73 กรัม/ตัว) ปริมาณฟอสฟอรัสที่ขับออก (5.51 6.80 และ 6.00 กรัม/ตัว) และการใช้ประโยชน์ได้ของฟอสฟอรัส(39.74 21.58 และ 30.72 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ พบว่าปริมาณการกินฟอสฟอรัสของไก่กระทงทั้ง 3 กลุ่ม มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ปริมาณฟอสฟอรัสที่ขับออกของกลุ่มที่กินอาหารเสริม DL-Met มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่กินอาหารขาดเมทไธโอนีนและกลุ่มที่เสริม DL-MHA อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) จึงทำให้การใช้ประโยชน์ได้ของกลุ่มที่กินอาหารเสริม DL-Met ต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่กินอาหารเสริม DL-MHA และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม DL-MHA กับกลุ่มที่ขาดเมทไธโอนีนพบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากผลการทดลองพบว่าการเสริมเมทไธโอนีนในอาหารไก่กระทง ทำให้การใช้ประโยชน์ได้ของแคลเซียมและฟอสฟอรัสลดลง เนื่องจากมีการขับแคลเซียมและฟอสฟอรัสออกทางมูลมากขึ้น โดยแคลเซียมสามารถขับออกจากร่างกาย 3 รูปแบบ คือ มูล ปัสสาวะ และเหงื่อ ซึ่ง Landon *et al.* (1986) รายงานว่า การเสริม L-Met ทำให้การดูดซึมแคลเซียมในร่างกายเพิ่มขึ้น แต่ไม่มีผลต่อการขับถ่ายแคลเซียมออกนอกร่างกาย ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการขับแคลเซียมและฟอสฟอรัสออกจากร่างกายถูกควบคุมความสมดุลด้วยระบบ Homoeostasis ดังนั้น การเสริมเมทไธโอนีนจึงไม่มีผลต่อการใช้ประโยชน์ได้ของแคลเซียมและฟอสฟอรัสในมูล

ตารางที่ 25 การใช้ประโยชน์ได้ของแคลเซียมและฟอสฟอรัสในมูลของไก่กระทงอายุ 35 - 42 วัน

ลักษณะที่ศึกษา	Basal diet [1/]	DL-Met [1/]	DL-MHA [1/]
ปริมาณแคลเซียมที่กิน (กรัม/ตัว)	18.72 ± 0.93	17.00 ± 0.80	17.47 ± 0.53
ปริมาณแคลเซียมขับออก (กรัม/ตัว)	9.04 ± 0.73 [b]	10.83 ± 0.44 [a]	10.42 ± 0.49 [ab]
แคลเซียมที่ใช้ประโยชน์ได้ (%)	51.22 ± 5.14 [a]	34.79 ± 5.08 [b]	39.86 ± 3.72 [ab]
ปริมาณฟอสฟอรัสที่กิน(กรัม/ตัว)	9.36 ± 0.46	8.50 ± 0.40	8.73 ± 0.27
ปริมาณฟอสฟอรัสขับออก(กรัม/ตัว)	5.51 ± 0.34 [B]	6.80 ± 0.19 [A]	6.00 ± 0.20 [B]
ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้ (%)	39.74 ± 5.47 [a]	21.58 ± 5.10 [b]	30.72 ± 3.52 [ab]

หมายเหตุ [a และ b] อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

[A และ B] อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$)

[1/] ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

N = 8 ตัว/กลุ่ม

6. อิทธิพลของแหล่งเมทไธโอนีนสังเคราะห์ต่อสารอาหารในตับ

6.1 ผลเมทไธโอนีนต่อระดับไตรกลีเซอไรด์

ศึกษาการเลี้ยงไก่กระทงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนกับกลุ่มที่เสริม DL-Met และ DL-MHA พบว่า ระดับไตรกลีเซอไรด์ในระยะแรก 0-21 วัน มีค่าเท่ากับ 22.69, 21.09 และ 20.342 mg/g ตามลำดับ และในระยะรุ่นเท่ากับ 21.39, 21.45 และ 22.46 mg/g ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าแต่ละกลุ่มไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทางสถิติ ดังตารางที่ 26

อุษณีย์ (2547) รายงานว่า ตับเป็นอวัยวะสำคัญที่เป็นแหล่งของการสังเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ ซึ่งไตรกลีเซอไรด์จัดเป็นไขมันชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญ หากร่างกายไม่สามารถนำเอาไตรกลีเซอไรด์ออกจากตับได้ จะทำให้เกิดภาวะไขมันคั่งในตับ (Fatty liver) โดยการสะสมไตรกลีเซอไรด์ในตับจะสูงกว่าปกติเมื่อ 1) การขนส่งไตรกลีเซอไรด์ออกจากตับล้มเหลว 2) การสังเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ในตับสูงขึ้น จากทั้ง 2 สาเหตุร่วมกัน (Wagner *et al.,* 1978) ซึ่งมีการทดลองของ Schexnailder and Griffith

(1973) รายงานว่า การเสริมเมทไธโอนีนร่วมกับวิตามิน บี 12 จะทำให้การสะสมไขมันในเนื้อเยื่อตับลดลง นั้นเป็นเพราะร่างกายสามารถนำเอาไตรกลีเซอไรด์ออกจากตับได้เป็นปกติ แม้ว่าจะมีการสังเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ในปริมาณสูง ทั้งนี้เพราะเมทไธโอนีน และวิตามิน บี 12 เป็น Lipotropic factor ที่ทำหน้าที่พาไตรกลีเซอร์ออกจากตับ แต่จากการทดลองในครั้งนี้ พบว่า ไก่กระทงที่กินอาหารขาดเมทไธโอนีนไม่มีผลต่อปริมาณไตรกลีเซอไรด์ในตับอย่างชัดเจน แสดงให้เห็นว่าร่างกายยังสามารถนำเอาไตรกลีเซอไรด์ออกจากตับได้ปกติ

ตารางที่ 26 ผลระดับไตรกลีเซอไรด์ในตับของไก่กระทง

ไตรกลีเซอไรด์ (mg/g)	Basal diet [1/]	DL-Met [1/]	DL-MHA [1/]
ระยะแรก (0-21 วัน)	22.69 ± 1.64	21.09 ± 0.73	20.34 ± 1.28
ระยะรุ่น (22 - 42 วัน)	21.39 ± 1.65	21.45 ± 1.49	22.46 ± 1.35

หมายเหตุ [1/] ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

N = 8 ตัว/กลุ่ม

6.2 ผลเมทไธโอนีนต่อองค์ประกอบทางเคมีในตับ

ผลการทดลองการเลี้ยงไก่กระทงด้วยอาหารที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนกับกลุ่มที่เสริม DL-Met และ DL-MHA พบว่า น้ำหนักตับในระยะแรก 0-21 วัน มีค่าเท่ากับ 25.29, 29.05 และ 27.47 กรัม และเมื่อเปรียบเทียบต่อน้ำหนักตัวเท่ากับ 3.43, 3.10 และ 2.92 % น้ำหนักตัว ตามลำดับ โดยกลุ่มที่กินอาหารขาดเมทไธโอนีนมีน้ำหนักตับเมื่อเทียบกับน้ำหนักตัวมากกว่ากลุ่มที่กินอาหารแบบ DL-MHA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับกลุ่มที่กินอาหารเสริม DL-Met และกลุ่มที่กินอาหารเสริม DL-Met กับ DL-MHA ก็ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน สำหรับไก่กระทงในระยะรุ่นมีน้ำหนักตับเท่ากับ 21.39, 21.45 และ 22.46 กรัม และเมื่อเปรียบเทียบต่อน้ำหนักตัวเท่ากับ2.46, 1.86 และ 1.84 % น้ำหนักตัว ตามลำดับ โดยกลุ่มที่เสริม DL-Met และ DL-MHA มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งทั้ง 2 กลุ่มมีน้ำหนักต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ส่วนปริมาณไนโตรจน โปรตีน และไขมันทั้งหมด มีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังตารางที่ 27

NIEHS (1999) รายงานว่า สัตว์ที่กินอาหารที่ขาดสมดุลของกรดอะมิโน จะมีน้ำหนักตับเพิ่มขึ้น เนื่องจากตับที่ขาดสมดุลของกรดอะมิโนต้องสังเคราะห์โปรตีนเพิ่มขึ้น เพื่อให้ร่างกายได้รับกรดอะมิโนเพียงพอกับความต้องการ โดยตับเป็นอวัยวะสำคัญที่ทำหน้าที่เปลี่ยนกรดอะมิโนให้เป็นโปรตีนในตับและพลาสม่า (Stevens, 1996) เช่นเดียวกับ Bunchasak *et al.* (2005) ที่ศึกษาผลของน้ำหนักตับในไก่ไข่ที่ได้รับโปรตีน 18, 14 และ 16 เปอร์เซ็นต์ พบว่ากลุ่มที่ได้รับโปรตีนสูง (18 เปอร์เซ็นต์) มีน้ำหนักตับมากกว่ากลุ่มที่ได้รับโปรตีนต่ำลงมา (14 และ 16 เปอร์เซ็นต์) สอดคล้องกับรัตนา (2549) ที่รายงานว่า ระดับโปรตีนที่ 14 เปอร์เซ็นต์ ทำให้น้ำหนักตับของไก่ไข่ลดลง ซึ่งอาจเป็นเพราะมีปริมาณไขมันและการสังเคราะห์โปรตีนต่ำลง ตรงข้ามจากการทดลองพบว่า ไก่กระทงที่กินอาหารขาดเมทไธโอนีนจะมีน้ำหนักตับไม่ต่างจากกลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีน เพราะมีปริมาณไนโตรเจนโปรตีน และไขมันในตับไม่ต่างกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักตัวพบว่ากลุ่มที่กินอาหารขาดเมทไธโอนีนมีน้ำหนักตับสูงกว่า ทั้งนี้อาจเป็นเพราะน้ำหนักตัวของกลุ่มที่กินอาหารขาดเมทไธโอนีนต่ำกว่ากลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีน

ตารางที่ 27 ผลแหล่งเมทไธโอนีนต่อองค์ประกอบของสารอาหารในตับของไก่กระทง

ลักษณะที่ศึกษา	Basal*	DL-Met*	DL-MHA*
ระยะแรก (0-21 วัน)			
น้ำหนักตับ (กรัม)	25.29 ± 0.93 [b]	29.05 ± 0.91 [a]	27.47 ± 0.75 [ab]
น้ำหนักตับ (%น้ำหนักตัว)	3.43 ± 0.11 [a]	3.10 ± 0.14 [ab]	2.92 ± 0.06 [b]
ความชื้น (เปอร์เซ็นต์)	74.34 ± 0.27	74.14 ± 0.52	73.38 ± 0.31
ไนโตรเจน (เปอร์เซ็นต์)	2.94 ± 0.07	2.88 ± 0.06	2.98 ± 0.05
โปรตีน (เปอร์เซ็นต์)	18.38 ± 0.41	18.03 ± 0.37	18.59 ± 0.30
ไขมันทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์)	6.15 ± 0.32	6.55 ± 0.52	6.29 ± 0.21
ระยะรุ่น (22 - 42 วัน)			
น้ำหนักตับ (กรัม)	21.39 ± 1.65	21.45 ± 1.49	22.46 ± 1.35
น้ำหนักตับ (%น้ำหนักตัว)	2.46 ± 0.08 [A]	1.86 ± 0.17 [B]	1.84 ± 0.05 [B]
ความชื้น (เปอร์เซ็นต์)	72.67 ± 0.47	71.94 ± 0.77	72.27 ± 0.65
ไนโตรเจน (เปอร์เซ็นต์)	2.92 ± 0.04	2.86 ± 0.08	2.99 ± 0.06
โปรตีน (เปอร์เซ็นต์)	18.28 ± 0.28	17.87 ± 0.50	18.68 ± 0.37
ไขมันทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์)	7.26 ± 0.23	7.47 ± 0.38	6.54 ± 0.55

หมายเหตุ [a และ b] อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

[A และ B] อักษรต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$)

[1/] ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

N = 8 ตัว/กลุ่ม

สรุป

1. สมรรถภาพการผลิตของไก่ที่กินอาหารเสริม DL-MHA ที่ Bioefficacy 80 % ของ DL-Met ไม่ต่างจาก DL-Met เพราะไก่มีปริมาณการกินอาหารไม่ต่างกัน ซึ่งปริมาณการกินอาหารมีความสัมพันธ์กับอัตราการเจริญเติบโต ทำให้ความสามารถในการเจริญเติบโตและคุณภาพซากไม่ต่าง

2. การเสริม DL-MHA ไม่มีผลในการลดการเกิด Ascites แม้น้ำหนักของหัวใจจะลดลง เพราะปริมาณ O_2 ที่ไก่ได้รับสมดุลกับ Metabolic rate

3. ปริมาณกรดยูริคในไก่ที่กินอาหาร DL-MHA เพิ่มขึ้น เพราะมีกรดอะมิโนส่วนเกินมากขึ้น ซึ่งอาจเป็นเพราะ Bioefficacy ของ DL-MHA อาจสูงกว่า 80 % ในขณะที่ความเข้มข้นของ NEFA และ TG ไม่ต่างกัน เพราะพลังงานที่ได้เพียงพอกับความต้องการของร่างกาย

4. การเสริม DL-MHA ทำให้ pH ในอาหารลดลง แต่ไม่มีผลในทางเดินอาหารและในมูล เพราะสัตว์จะรักษาสมดุลของกรด-ด่าง เพื่อให้น้ำย่อยสามารถทำงานได้ปกติ

5. การเสริม DL-MHA ไม่สามารถเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของแร่ธาตุ เพราะร่างกายขับ Ca และ P มากขึ้น เนื่องจากร่างกายมีระบบ Homoeostasis เพื่อควบคุมความสมดุลของแคลเซียมและฟอสฟอรัสในร่างกาย และการใช้ประโยชน์ได้ของแคลเซียมและฟอสฟอรัสของกลุ่มที่กินเสริม DL-MHA มีแนวโน้มดีกว่ากลุ่มที่กินอาหารเสริม DL-Met

6. ไก่ที่กินอาหารเสริม Met. มีน้ำหนักกระดูก Tibia เพิ่มขึ้น ทำให้มีการสะสมแร่ธาตุมากขึ้น แต่การเสริม DL-MHA ทำให้กระดูกแข็งแรงมากขึ้น อาจเป็นเพราะมีการสะสมสารอาหารมากขึ้น หรือ pH ที่ต่ำในอาหาร

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาผลของดีแอล–เมทไธโอนีน และดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซี่อะนาลอค ต่อสมรรถภาพการผลิต เมทาบอลิซึมของไขมัน และการสะสมแร่ธาตุในไก่กระทงเพศผู้ในครั้งนี้มีข้อเสนอแนะดังต่อไปนี้

1. สมรรถภาพการผลิตของไก่ที่กินอาหารเสริม DL-MHA ที่ Bioefficacy 80 % ของ DL-Met มีแนวโน้มดีกว่ากลุ่มที่กินอาหารเสริม DL-Met ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าระดับ Bioefficacy ของ DL-MHA อาจสูงกว่านี้ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาระดับ Bioefficacy ของ DL-MHA ที่สูงกว่า 80 % ของ DL-Met

2. ศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับค่าความแข็งของกระดูก ในไก่กระทงกลุ่มที่กินอาหารเสริม DL-MHA เนื่องจากพบว่า มีความแข็งมากกว่ากลุ่มที่กินอาหารเสริม DL-Met ซึ่งอาจเป็นเพราะการใช้ประโยชน์ได้ของแคลเซียมและฟอสฟอรัสของกลุ่มที่กินเสริม DL-MHA มีแนวโน้มดีกว่ากลุ่มที่กินอาหารเสริม DL-Met

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์.2548. **การใช้โปรตีนและกรดอะมิโนในสัตว์กระเพาะเดี่ยว.** ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ

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

นวลจันทร์ พารักษา. 2544**. อาหารสัตว์**. ภาควิชาสัตวบาล. คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

เนติกานต์ แก้วอรุณ อังคณา หาญบรรจง และ ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์. 2548. ผลของ DL-methionine และ Methionine Hydroxy Analogue ต่อสมรรถภาพการผลิตและการสะสมแร่ธาตุในร่างกายไก่กระทงเพศผู้. **การประชุมวิชาการสาขาสัตวบาล ครั้งที่ 5.** คณะเกษตรศาสตร์ใ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่.

เนติกานต์ แก้วอรุณ. 2549. ผลของแหล่งกรดอะมิโนเมทไธโอนีนต่อสมรรถภาพการผลิต และการใช้ประโยชน์ได้ของสารอาหารในไก่กระทงเพศผู้**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.**

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

พัชรา วิสุตกุล และ สุพรพิมพ์ เจียรสกุล. 2533. **ระบบต่อมไร้ท่อ**. น. 734-983.

รัตนา นึกเร็ว. 2549. **ผลของระดับโปรตีนและกรดอะมิโนเมทไธโอนีนในอาหารต่อขบวนการเมทาบอลิซึมของไขมันในไก่ไข่**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ราชาวดี ยอดเศรณี. 2546. **ผลการเสริมเม็ดไทต์และหัวเชื้อจุลินทรีย์ผสม หัวเชื้อจุลินทรีย์น้ำสกัดชีวภาพจากพืชและระดับแอมโมเนียในมูลไก่ไข่.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สมนึก วิสุทธิพงศ์ถาวร. 2537. **ความต้องการเมทไธโอนีนในไก่ลูกผสมพื้นเมืองสุวรรณ-6 ระยะ 0-6 สัปดาห์**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

เสกสม อาตมางกูร. 2547. **การใช้สารเสริมเพื่อช่วยปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาการของอาหารสัตว์**. เอกสารประกอบการฝึกอบรมเทคนิคการผลิตอาหารสัตว์ขั้นสูง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน , นครปฐม. 82 น.

อาภัสสรา ชมิดท์. 2543. **ชีวเคมี.** ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ

อุคเดช บุญประกอบ. 2548. **คู่มือปฏิบัติการสรีรวิทยาทางสัตวแพทย์**.ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ

อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ. 2547. **ชีวเคมีของลิปิดและไลโปโปตีน**. ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Albino, L.F.T., S.H.M. Silva, J.R. Varga, H.S. Rostagno and M.A Silva. 1999. Niveis de metionina + cistina para frangos de corte de 1 a 21 e 22 a 42 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**. 28:519-525.

Ames, B.N., R. Catheart, E. Schwiers and P. Hochstein. 1981. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant and radical caused aging and cancer: a hypothesis. **Proc. Natl. Acad. Sci**. USA. 78: 6858-6862.

Andrys, R., D. Klecker, L. Zeman and E. Marecek. 2003. The effect of changed pH values of feed in isophosphoric diets on chicken broiler performance. **Czech. J. Anim. Sci**. 48 (5) : 197-206.

Anonymous. 2002. **Phospholipid metabolism**. Available Source: http:// www.med.uric.edu/m1/biochemistry/Tareview/phospholipid.htm

AOAC. 1990. **Official Methods of Analysis**. 15th ed. Ass0ciation of Official analytical Chemists, Washington, DC.

Atapattu, N.S.B.M. and C.J. Nelligaswatta. 2005. Effect of citric acid on the performance and utilization of phosphorus and crude protein in broiler chickens fed on rice by products based diet. **International Journal of Poultry Science** 4 (12) : 990-993.

Baker, D.H. 1994. **Utilzation of precursor for L-amino acids**, In Amino acids in farm animal nutrition, Edited by J.P.F.D' Mello, CAB international, UK, pp 418.

————— . and G.L. Czarnecki. 1985. Tranmethylation of homocysteine to methionine effciency in the rat and chick. **Poult. Sci**. 115: 1291-1299.

————— . and K.P. Boebel. 1981. Utilization of the D-isomers of arginine and histidine by chicks and rats. J**. Anim. Sci**. 53: 125-129.

Balnave, D. and A. Oliva. 1990. Responses of finishing broilers at high temperratures to dietary methionine source and supplementation levels. **Australian Journal Agriculture Research**. 41:557-564.

Bartov, I. and I. Plavnik. 1998. Moderate excess of dietary protein increases breast meat yield of broiler chicks. **Poultry Science**. 77 : 680-688.

Bateman, A., Z. Liu, M.M. Bryant, G. Wu and D.A. Roland. 2005. Eplanation on how to interpret property the bioefficacy of methionine hydroxy analogue-free acid relative to dl-methionine estimate by regression model in laying hens. **Int. J. Poult. Sci.** 4: 280-285.

Bobek, S., M. Jastrzebski and M. Pietras. 1977. Age related changes in oxygen consumtion an plasma thyroid hormone concentration in the young chicken. **Gen. Comp. Endocrinol**. 31: 169-174.

Boebel, K.P. and D.H. Baker. 1982. Efficacy of the calcium salt and free forms of methionine hydroxy-analog for chicks**. Poultry Science**. 61:1167-1175.

Bölükbasi, S.C., M.S. Aktas and M. Güzel. 2005. The effect of Regimen on ascites incidenced by cold temperatures and growt performance in male broilers. **Int. J. Poult. Sci**. 4(5): 326-329.

Boorman, K.N. 1979. **Regulation of protein and amino acid intake**. In: Boorman K.N., Freeman B.M. (eds.): Food Intake Regulation in Poultry. British Poultry Science Ltd., Symposium XIV. Edinburgh, Scotland. 87-126.

———— . and A.D. Burgess. 1986. **Responses to amino acids** In: Nutrient Requirements of Poultry and Nutritional Research (Fish, C. and Boorman K.N. eds). Butterworths, London, pp. 99-123.

Bottje, W.G. and R.F. Wideman, Jr. 1995. Potential role of free radicals in the pathogenesis of pulmonary hypertension syndrom. **Poult. Avian Biol. Rev**. 6: 211-231.

Bunchasak, C. and N.Keawarun. 2006. Effect of methionine hydroxy analog free acid on growth performance and chemical composition of liver of broiler chicks fed a corn-soybean based diet from 0 to 6 weeks of age. **Ani. Sci. J**. 77:95-102 .

———— ., G. Kimura, K. Tanaka, S. Ohtani and C.M. Collada. 1997. The effects of supplementing cystine on the growth performance and liver lipid and phospholipids contents of broiler chicks**. Japanese Poultry Science**. 35: 60-66.

————., G. Kimura, K. Tanaka, S. Ohtani, and C.M. Collada. 1996b. The effect of supplementing cystine on the growth performance and liver lipid and phospholipids contents of broiler chicks. Jpn. **Poult. Sci**. 35: 60-66.

———— ., K. Poonsuwan, R. Nukraew, K. Markvichitr and A. Choothesa. 2005. Effect of dietary protein on egg production and immunity responses of laying hens during peak production period. **Inter. J. Poult. Sci**. 4(9): 701-708.

———— ., K. Takana and S. Ohtani. 1998. Effect of supplementing nonessential amino acids on growth performance and fat accumulation in broiler chicks feds a diet supplemented with Met+Cys. **Jpn. Poult. Sci**. 35: 182-188.

———— ., K. Tanaka, S. Ohtani and C.M. Collado. 1996a. Effect of Met+Cys supplementtation a low-protein diet on the growth performance and fat accumulation of broiler chicks at starter period. **Anim. Sci. Tech. (Jpn.)** 67: 956-966.

———— ., U. Santoso, K. Tanaka, S. Ohtni and C.M. Collado. 1997. The effect of supplementing methionine plus cystine to a low-protein diet on the growth performent and fat accumulation of growing broiler chicks. Asian-Australian **J. Ani. Sci**. 10: 185-191.

Burnell, T.W., G.L. Cromwell and T.S. Stahly. 1990. Effect of paticle size on the biological availability of calcium and phosphorus in defluorinated phosphate for chicks. **Poult. Sci.** 69: 110-117.

Buttery, P.J. and J.P.F.D' Mello. 1994**. Amino acid metabolism in farn animal: an overview,** pp. 1-10. *In* J.P.F.D' Mello(ed). Amino Acid in Farm Animal Nutrition. CABInternational Wallingford. UK.

Campbell, K.C.M. 2001. **Therapeutic Use of D-methionine to reduce the toxicity of platinum-containing anti-tumor compounds and other compounds**. US Patent 6187817

Card, L.E. and M.C. Nesherm, 1972. **Poultry Production**. 11th ed. Humphrey Press, Philadephia.

Carew, L.B., J.P. McMurtry and F.A. Alster. 2003. Effects of methionine deficiencies on plasma levels of thyroid hormones, insulin-like growth factor-I and –II, liver and weights and feed intake in growing chickens. **Poult. Sci**. 82: 1932-1938.

———— ., K.G. Evarts and F.A. Alster. 1998. Growth feed intake and plasma thyroid hormone levels in chicks fed dietary excesses of essential amino acids. **Poultry Sci**. 77: 295-298.

Chen, J., J. Hayat, B. Huang, D. Balnave and J. Brake. 2003. Responses of broilers at moderate or high temperatures to dietart arginine:lysine ration and source of supplemental methionine activity. **Australian J. of Agricultural Research.** 54:177-181.

Commerford, P.J. 2004. Available Source: http://web.uct.ac.za,

Corzo, A., C.D. McDaniel, M.T. Kidd, E.R. Miller, B.B. Boren and B.I. F.ancher. 2004. Impact of dietary amino acid concentration on growth, carcass yield and uniformity of broilers. **Australian J. of Agricultural Research**. 55:1133-1138.

Crenshaw, T.D., E.R. Peo, Jr. A. J.Lewis and D.G. Olson. 1981b. Influence of age, sex calcium and phosphorus levels on the mechanical properties of various bones in swine. **J. Anim. Sci.** 52: 1319-1330.

Currie, R. 1999. Ascites in poultry: recent investigations. **Avian Pathology.** 28: 313-326.

Dale, N. 1990. **Dietary factors influence ascites syndrome in broilers**. Feedstufts, pp: 14-16.

——— ., and A. Villacres. 1988. Relationship of two week body weight to the incidence of ascites in broilers. **Avian Dis**., 32: 556-560.

Damron, B.L. and L. Flunker. 1992. 2-Hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid as a drinking water supplement for broiler chicks. **Poult. Sci.** 71: 1695-1699.

daSilva, J.M.L., N. Dale and J.B. Luchesi. 1988. Effect of pelleted feed on the incidence of ascites in broilers reared at low altitudes. **Avian Diseases.** 32: 376-378.

Davidson, D.L and H.J. Passmoree. 1969. **Human Nutrition and Dietetics**. E & S Livingstone LTD. Deindburgh and London. 353 pp.

Denbow, D.M. 2000. **Gastrointestinal anatomy and physiology**. In: GC Whittow (editor). Sturkie's Avian Physiology. Academic Press. London. P. 299-325.

Dibner, J.J. 1983. Utilization of supplemental methionine sources by primary cell cultures of chick hepatocytes. **J. Nutr**. 113: 2116-2123.

———— ., 2003. Review of the metabolism of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid. Worlds Poult. Sci. J. 59: 99-110.tro. **Poult. Sci**. 71: 1900-1910.

———— ., and C.D. Knight. 1984. Conversation of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid and L-methionine in the chick: A stereospecific pathway. **J.Nutr.** 114: 1716-1723.

————., C.A. Atwell and F.J. Ivey. 1992. Effect of heat stress on 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid and DL-methionine absorption measured in vitro. **Poult. Sci.** 71: 1900-1910.

Edmonds, M.S., C.M. Parsons and D.H. Baker. 1985. Limiting amino acid in low protein corn-soybean meal diet fed to growing chick. **Poult. Sci.** 64: 1519-1526.

Edwin, T. 1994. Response of broiler strains differing in body fat to inadequate methionine: live performance and processing yields. **Poult. Sci**. 73: 1116-1126.

Elkin, R.G. and P.Y. Hester. 1983. A comparison of mrthionine sources for broiler chicken for corn-soybean meal diets under simulate commercial grow-out conditions. **Poult Sci.** 53: 680-691.

Finkelstein, J.D. 1990. Methionine Metabolism in Mammals. **J. Nutr. Biochem**. 1: 228-237.

Folch, J., M. Lees and G.H. Sloanestanley. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. **Received for publication**, 23: 497-.509

Friedhelm, K., J.A.W. Peter, A. Lemme and J.L. Dirk. 2002. Impact of a balanced amino acid profile on broiler performance. **Vet. J. Zootechnika.T**. 19:70-75.

Funfstuck, R., E. Straube, O. Schildbach and U. Tietz. 1997. Prevention of reinfection by L-methionine in patients with recurrent urinary tract infection. **Med Klin** 92: 574-81.

Gabarrou, J.F., C. Duchump, J. Williams and P.A. Geraert. 1997. A role of thyroid hormones in the regulation of diet-induced thermogenesis in birds. **Br. J. Nutr**. 78: 963-973.

Garlich, J. 1985. Response of broiler to DL-methionine hydroxy analog free acid, DL-methionine and L-methionine. **Poult. Sci**. 64: 1541-1548.

——— ., and R. Schisla. 1983. Comparison of DL-MHAFA, DL-Met and L-MET in a corn-soy broiler diet. **Poult Sci**. 62: 1347-1353.

Gonzales, E., J. Buyse, J.R. Sartori, M.M. Loddi and E. Decuypere. 1999. Metabolic disturbances in male broilers of different strains. 2. Relationship between the thyroid and somatotropic axes with growth and mortality. **Poult. Sci**. 78: 516-521.

Goodridge, A.G., and E.G. Ball 1967. Lipogenesis in the pigeon: *in vivo* studies. **Am. J. Physiol.** 213: 245-249.

Gorman, I and D. Balnave. 1995. The effect of dietary lysine and methionine concentration on the growth characteristics and breast meat yields of Australian broiler chickens. **Aust.J. Agr. Research.** 46:1569-1577.

Government of Alberta. 2004. **Ascites Agricuture food and rural development** http://www1.agic.gov.ab.ca/$deartment/deptdocs.nsf/all/pou3546?opendo

Gurr, M.I. and J.L. Harwood. 1991. **Lipid Biochemistry.** Chapman & Hall, USA.

Han, Y., F Castanon, C.M. Parson and D.H. Baker. 1990. Absorption and bioavailability of DL-Methionine hydroxy analoge compare to DL-Methionine. **Poult. Sci.** 69: 281-287.

Harper, A.E., N.J. Benevenga and R. M. Wohlhueter. 1970. Effects of ingestion of disproportionate amounts of amino acids. **Physiol. Rev**. 50:428-558.

———— . and Q.R. Rogers. 1965. Amino acid diets and maximal growth in the rat. **J. Nutri**. 87:267-73.

Harms, R.H. and G.B. Russell. 1994. A comparison of the bioavailability of DL-methionine hydroxy analogue acid for the comercial laying hen. **J.Appl. Poult. Res.** 3: 1-6.

Harry, K.S., G. Robert, A.I. Pau and Z. Reza. 2002. Effect of dietary protein level amino acid balance and feeding level on growth gastrointestinal tract and mucosal structure of the small intestine in broiler chickens. **Anim. Res**. 51: 501-515.

Hassan, A. B., I. A. Mohamed Ahmed, N. M. Osman, M. M. Eltayeb, G. A. Osman and E. E. Babiker. 2006. Effect of Processing Treatments Followed by Fermentation on Protein Content and Digestibility of Pearl Millet (Pennisetum typhoideum) Cultivars. **Pakistan J. of Nutrition**. 5: 86-89.

Hernandez, A. 1984. **Influencia de la temperature en la incidencia de la ascites de origen hipoxico enpollos de engorde.** Memorias XIV Congreso Nacional de Medicina Veterinaria Zootecnia, pp: 14 (Cartagena, Colombia).

Hernandez, A. 1987. Hypoxic ascites on broiler: A review of several studies done of Columbia. **Avian. Dis**. 31: 358-361.

Hickling, D., W. Guenter and M.E. Jackson. 1990. The effect of dietary methionine and lysine on broiler chicken performance and breast meat yield. **Can J of Anim sci**. 70: 673-8.

Hiramoto, K., T. Muramatsu and J. Okumura. 1990. Effect of methionine and lysine deficiencies on protein synthesis in the liver and oviduct and in the whole body of laying hens. **Poult. Sci.** 69 : 84 – 89.

Hoehler, D. and D.M. Hooge. 2003. Relative effectiveness of methionine sources in turkeys-scientific and new commercial data. **Int. J. Poult. Sci.** 2 (5): 361-366.

Huyghebaert G. 1993. Comparison of DL-methionine and menthionine hydroxy analogue:free acid in broilers by using multi-exponential. **British Poult. Science**. 351-359

———————— . and M. Pack. 1996. Effects of dietary protein content addition of nonessential amino acida and dietary methionine to cysteine balance on responses to dietary sulphur-containing amino acids in broiler. **Br. Poult. Sci**. 37: 623-639.

Iji, P.A., A. Saki and D.R. Tivey. 2001. Body and intestinal growth of broiler chicks on acommercial starter diet. 1. Intestinal weight and mucosal development. **Brit. Poult. Sci**. 42: 505-513.

Irving, J.T. 1964. **Mineral metabolism**. P. 249. *Cited by* L.R. McDowell. Mineral in Animal and Human Nutrition. Academic Press, Inc. Tokyo. 524 p.

Jensen, L.S., C.L. Wyatt and B.I. Francer. 1989. Sulphur amino acid requirement of broiler chickens from 3 to 6 weeks of age. **Poult. Sci**. 680 : 163-68.

Jianlin, Si. J.H., K. Ersey, C.A. Fritts and P.W. Waldroup. 2004. An evaluation of the interaction of lysine and methionine in diets for growing broilers. **Int. J. of Poult. Sci**. 3: 51-60.

Johnson, N.E., B.F. Harland, E. Ross, L. Gautz and M.A. Dunn. 1992. Effects of dietary aluminum and niacin on chick tibia. **Poult. Sci.** 71: 1188-1195.

Julian, R.J. 1987. The effect of increased sodium in the drinking water on tight ventricular hypertrophy, right ventricular failure and ascites on broiler chickens. **Avian Pathol.** 16: 61-71.

———————— . 1998. Physiologycal mnagement and environmental triggers of the ascites syndrom. **Poultry International***: Asia Pacific Edition,* 37(8): 28-33.

———————— ., G.W. Friars, H. French and M. Qinton. 1987. The relationship of right ventricular and roaster chickens. **Avian Dis.,** 31: 130-135.

———— ., I. Mcmillan and M. Quinton. 1989. Theeffect of cold and dietary energy on right ventricular hypertrophy right ventricular failure and ascites in meat-type chickens. **Avian Pathology.** 18: 675-684.

Kalinowski, A., E.T. Moran Jr and C.L. Wyatt. 2003. Methionine and Cystine Requirement of Slow and Fast Feathering Broiler Males from Three to Six Weeks of Age. **Poult. Sci**. 82:1428-1437.

Karasawa, Y. 1986b. Time course of urinary excretion of intraportal ammonia as uric acid and ammonia in chickkens fed low or high protein diet. **Comp Biochem Physiology A.** 83: 569-572.

Kino, K. and J. Okmura. 1986. The effect of single essential amino acid deprivative on chick growth and nitrogen and energy balances at *ad libitum* and equalized-food intake. **Poultry Sci**. 65:1728-1735.

Kiraz, S. and T. Sengül. 2005. Relationship between abdominal fat and methionine deficiency in broilers. **Czech J. Anim. Sci**. 50(8):362-368.

Knight, C.D. and J.J. Dibner. 1984. Comparative absorption of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid and L-methionine in the broiler chick. **J. Nutr**. 144: 2179-86.

———— ., C.W. Wuelling, C.A. Atwell and J.J. Dibnor. 1994. Effect of intermittent periods of hight environmental temperature on broiler performance response to source of methionine activity. **Poult. Sci**. 73: 627-39.

Landon E.J., L. Owens and B.V. Sastry. 1986. Effect of L-methionine on contractile response, calcium influx and calcium channel blocking agents in the rat aorta. **Pharmacology**. 32 (4) :190-201.

Leenstra, F.R. 1986. Effect of age sex genotype and environment on fat deposition in broiler chickens. **World's Poult. Sci. J**. 42: 12-25.

Leeson, S. and J.D. Summer. 1991. **Commercial Poultry Nutrition**. University Books, Ontario. 283p.

Luger, D., D. Shinder, D. Wolfenson and S. Yahav. 2003. Erythopoiesis regulation during the development of ascites syndrome in broiler chicken: A possible role of corticosterone. **J. Anim Sci**. 81: 784-790.

——— ., D. Shinder, V. Rzepakovsky, M. Rusal, and S. Yahav. 2001. Association betaween weight gain, blood parameters, and thyroid hormones and the development of ascites syndrom in broiler chickens. **Poult. Sci.** 80: 965-971.

Machin, M., M.F. Simoyi, K.P. Blemings and H. Klandorf. 2004. Increased dietary protein elevates plasma uric acid and is associated with decreased oxidative stress in rapidly-growing broiler. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**. 137: 383-390.

Mack, S. A. Lemme, G. Irish and J. Tossenberger. 2005. **Effects of dietary methionine on broiler flock uniformity**. Source: University of Sydney-Published on The Poultry Site-April 2005.

Maenz, D. and C.M. Engele-Schaan. 1996a. Methionine and 2-hydroxy-4-methylbutanoic acid chick intestinal epithelium. **J. of nutrition.** 126: 529-536.

Magro N. 1999. **Variacao da granulometria das racoes em frangos de corte machos**. De 21 aos 42 dias de idade. (Dissertacao). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre (RS).

Mandal, A.B. , A.V. Elangovan and T.S. Johri. 2004. Comparing bio-efficacy of Liquid DL – methionine hydroxy analogue free acid with DL-methionine in Broiler Chickens. Asian-Aust. **J. Anim. Sci**. 17 : 102 – 108.

Maxwell, M.H., G.W. Robertson and S. Spence. 1986. Studies on an ascites syndrome in young broilers. 1.Heamatology and pathology. **Avian Pathol**. 15: 511-524.

McDowell, L.R. 1992. **Minerals in Animal and Human Nutrition**. Academic Press, Inc., New York. 750 p.

McGovern, R.H., J.J.R. Feddes, F.E. Robinon and J.A. Hanson 1999. Growth performance, Carcass Characteristics, and The Incidence of Ascites in Broiler in Response to Feed Restriction and Litter Oiling. **Poult. Sci**. 78: 522-528.

————————., M.J. Zuidhof, J.A. Hanson and F.E. Robinson 2001. Growth performance, heart characteristics and the incidence of ascites in broilers in response to carbon dioxide and oxygen concentrations. **Can. Bio. Engin**. 43: 41-46.

Mchenry, E.W. and H.B. George. 1963. **Nutrient Elements**. Basic Nutrition Pitman Medical Publishing Co., Ltd. Philadelphia London. 615 p.

McNabb, F.M.A. and D.B. King. 1993. **Thyroid hormones effects on growth development and metabolism**. Page 393-417 *in:* The Endocrinology of Growth Development and Metabolism. Vertebrates M.P. Schreibman, C.G. Scanes and P.K.T. Pang, ed. Academic Press, New York, NY.

Meirelles, H.T., R. Albuquerque, L.M.O. Borgatti, L.W.O. Souza, N.C. Meister and F.R. Lima. 2003. Performance of broilers fed with different levels of methionine hydroxy analogue and DL-methionine. **Revista Brasileira de Ciencia Avicola**. 5:69-74.

Mendonca, C.X. and L.S. Jensen. 1989. Influence of protein concentration on the sulphur amino acid requirement of broiler chickens during the finishing period. **Brit Poult. Sci**. 30 : 889-898.

Miles, R.D. and W.R. Featherston. 1976. Uric acid excretion by chick as an indicator of dietary protein quality. **Poult. Sci**. 55: 98-102.

Moran, E.T. Jr. 1994. Response of broiler strains differing in body fat to inadequate methionine: Live performance and processing yields. **Poult. Sci**. 73 : 1116-1126.

Mroz, Z., A.W. Jongbloed, K. Partanen, K. Vreman, J. th M. van Diepen, P.A. Kemme and J. Kogut. 1997. The effect of dietary buffering capacity and organic acid supplementation (formic, fumaric, n-butyric acid) on digestibility of nutrients (protein amino acids, energy and excreta production) in growing pigs. **Report ID-DLO.** 97:014.

Muramatsu, T. and J.I. Okumura. 1979. Effect of dietary methionine and arginine on uric acid excretion of cocks fed aprotein-free diet**. J.Nutr**. 109: 1057-1062.

National Research Council. 1984. **Nutrition Requirement of Poultry**. 8th ed. Nation Academy of Science. Washington,D.C.

NIEHS (Nation Institute for Environmental Health Science). 1999. Nation toxicology program profile: L-methionine. Available Source: http://ntp-server.niehs.nih.gov.

Nir I.G., R. Hillel and I. Ptichi. 1995. Effect of particle size on performance: 3. Grinding pelleting interactions. **Poult. Sci**. 74: 771-783.

————., Y. Shefet and G Aroni. 1994a. Effect of particle size on performance. 1 Corn **Poult. Sci.** 73: 45-49.

Noble, R.C., F. Lonsdale., K. Connor and D. Brown. 1986. Changes in the lipid metabolism of thechick embryo with parental age. **Poult. Sci**. 65: 409-416.

Odom, T.W., L.M. Rosenbawn and B.M. Hargis. 1992. Evaluation of vectaelectro cardiographic analysis of young broiler chicken as a predictive index of applied**. Poult. Res**. 3: 244-252.

Ohta, T., M. Toyomizu and T. Ishibashi. 1993. **Comparison of the effect of supplementation of methionine and cystine on performance and abdominal fat of broiler**. In: World conference on animal production, Canada., pp. 112-113.

Pan, Y.X., E.A. Wong, J.R. Bloomquist and K.E. Webb. 2001. Expression of cloned ovine gastrointestinal peptide transporter (oPepT1) in Xenopus Oocyte induce uptake of oligopeptides in Vitro, **Jornal of Nutrition**. 131 : 1264-1270.

Patrick, H. and P.J. Schaible. 1980. **Poultry Feed Nutrition**. AVI Publishing company: Westport Conneeticut.

Peckham, M.C. 1978. **Poisons and toxins**, p. 927-929. In Hofstad, M.S. (ed.),Diseases of Poultry, Iowa State University Press. Ames Iowa. U.S.A.

Peo, E. R. 1991. **Calcium, phosphorus and vitamin D in swine nutrition**. In: E. R. Miller, D. E.Ullrey and A. J. Lewis (ed.) Swine Nutrition. p. 165. Butterworth-Heinemann, Stoneham, MA.

Potter, L.M. 1984. **Limiting amino acids in poultry** diets. Proceeding of he Carolina Poultry Nutrition Conference 9: 33-40.

Rangel-Lugo, M. and R. E. Austic. 1998. Transamination of 2-oxo-4-(methylthio) butanoic acid in chicken tissue. **Poult. Sci**. 77: 98-104.

Ratchett, M. 2000. **Low carbohydrate, high protein diet may help you lose weight**. All of It. Dead weight. Weekly wire. January 31,2000

Ribeiro, A.M.L., F. Dahlke and A.M. Kessler. 2005. Methionine sources do not affect performance and carcass yield of broilers fed vegetable diets and aubmitted to cyclic heat stress. **Rev. Bras. Cienc. Avic**. 7(3) : 159-164.

Rislet, C.R., E.T. Kornegay, M.D. Lindemann , C.M. Wood and W.N. Eigel. 1992. Effect of feeding organic acids on selected intestinal content measurement at varying time postweaning in pigs. **J. Anim. Sci. 70: 196.**

_____ ., _____ ., _____ and S.M. Weak-land. 1991. Effects of organic acids with and without a microbial culture on performance and gastrointestinal tract measurements of weanling pigs. **Anim. Feed Sci. Technol.** 35:259.

Rogers, Q.R. and P.M.B. Leung. 1973. The influence of amino acids on the neuroregulation of food intake**. Federation Proceedings American Socs., Experimental Biology**. 32:1709-1719.

Romoser, GL, P.L. Wright and R.B.Grainger .1976. An evaluation of the l-methionine activity of the hydroxyl analogue of methionine**. Poult Sci**. 55: 1099-1103

Rostagno, H.S. and W.A. Barbosa. 1995. Biological efficacy and absorption of DL-methionine hydroxy analogue free acid compared to DL-methionine in chickens as affected by heat stress. **Brit. Poult. Sci**. 36: 303-12

SAS. 1988. **SAS User's Guide: Statistics**. SAS Institute. Inc, North. Carolina. 584 p.

Schexnailder, R and M. Griffith. 1973. Liver fat and egg production of laying hens as influenced by choline and other nutrients. **Poultry Sci.** 52: 1188-1194.

Schutte, J.B. and E.J. van Weerden. 1987. Effectiveness of methionine hydroxy analogue as affected by the dietary level of L-methionine in chicks. **Nutr.Rep.Int**. 36:253-259.

———— . and E.J. Van Weerden. 1981. Effectiveness of DL-methionine hydroxy analogue in comparison with DL-methionine in broiler. **Feedstuffs**. 53(26) : 16.

———— . and M. Pack. 1995. Sulphur amino acid requirement of broiler chickens from fourteen to thirthy-eight days of age. 1. Performance and carcass yield. **Poultry Science**. 74(3):480-87.

Scott, M.L., M.C. Nesheim and R.J. Young. 1982. **Nutrition of the chicken**. 3rd ed. Ithaca N.Y. 562p.

———— ., ———— and R.J. Yong. 1982. **Nutrition of the Chicken. Scott & Associates** Public: New York.

Shlosberg, A., E. Berman, V. Bendheim and I. Plavnil. 1991. Controlled early feed restricion as a potential means of reducing the incidence of ascites in broilers. **Avian Dis**., 35: 681-684.

———— ., G. Pano, V. Handji and E. Berman. 1992a. Prophylactic and therapeutic treatment of ascites in broiler chicken. **British Poultry Science.** 33: 141-148.

Sijun, Y., G. Dingzong and Y Baoan. 2002. Histopathology of the lymphatic system in ascitic broiler. **Vet.Med-Czech**. 47: 264-269.

Silva, J.M.L., N. Dale and J.B. Luchesi. 1988. Effect of pelleted feed on the incidence of ascites in broilers reared at low altitudes. **Avian Dis**., 32: 376-378.

Smith, E.L., RL. Hill, I.R. Lehman, R.J. Lefkowitz, P. Handler and A. White. 1988. **Principles of Biochemistry: Mammalian Biochemistry**. 7th ed. MaGraw - Hill Book Co. Singapore. 760p.

Smith, J.T., R.V. Acuff, J.B. Bittle and M.L. Gilbert. 1983. A metabolic comparison of cystine and methionine supplements in the diet of rat. **J.Nutr**. 113:222-227.

———— ., V.A. Robert., B.B. Joyce and L.G. Mary. 1983. A metabolic comparison of cyteine and methionine supplements in the diet of a rat. **J. Nutr**. 113: 22-227.

Smith, S.W. 1975. A new salting-out technique for colorimetric free fatty acid assays. **Anal. Biochem.** 67: 531-539.

Smith, R.E. 1966. The utilization of L-methionine, DL-methionine and methionine hydroxy analogue by the growing chick. **Poult. Sci**. 49: 571-577.

Smith, S.W. 1975. A New salting-out technique for calorimetric free fatty acid assays. **Analytical biochemistry**. 67: 531-539.

Stevens, L. 1996. **Avian Biochemistry and Molecular Biology**. Cambridge University Press.

Straw, M.L., E.T. Kornegay, J.L. Evans and C.M. Wood. 1991. Effects of dietary pH and phosphorus source on performance, gastrointestinal tract digesta and bone measurement of wean-ling pigs. **J. Anim. Sci.** 69:4496.

Sugahara, M., D.H. Baker and H.M. Scott. 1969. Effect of different patterns of amino acid on performance of chicks fed amion acid – deficient diets. **J. Nutr.** 97 : 29 – 32.

Summers, J.D., S. Blackman and S. Leeson. 1987. Assay for estimating the potency of various methionine-active sources. **Poult. Sci.** 66: 1779-1787.

Sutton, C.D., W.M.Muir and G.E. Mitchell. 1984. Cholesterol metabolism in the laying hen as influenced by dietary cholesterol, caloric intake and genotype. **Poult. Sci.** 63: 972-980.

Takeuchi, F., S. Izuta, R. Tsubouchi and Y. Shibata. 1991. Glutathione level and related enzyme activities in vitamin B 6 deficient rats fes a high methionine and low cystine diet. **J. Nutr.** 121: 1366-1373.

Tan, B.J., S. Ohtani and K.I. Tanaka. 1999. Effect of early feed restriction of varied severity on growth performance carcass composition and lipid metabolism. **J. Anim. Sci.** 70: 297-305.

Tesserand, S., E.L. Bihan-Duval, R. Peresson, J. Michel and A.M. Changneau. 1999. Response of chick lines selected on carcass quality to dietary lysine supply: Live performance and development. **Poult. Sci.** 78: 80-84.

Thomas, O.P., P.C. Tamplin, S.D. Crissey, E. Bossard and A. Zuckerman. 1991. An evaluation of methionine hydroxy analog free acid using a nonlinear (exponential) bioassay. **Poult. Sci.** 70: 605-610.

Thompson,J.L. and M. Hinton. 1997.Antibacterial activity of formic and propionic acids in the diet of hens on salmonellas in the crops. **British Poult.Sci**.38: 59-65.

Twining, P.F. and H.W. Hochstetler. 1982. Performance of broilers fed levels of supplementation with either DL-methionine or methionine hydroxy analogue**. Feedstuffs**. 54 : 21-22.

van Kol, E and Franklin. 2006. Feed acidifying-there is more than just lowering pH. **Feed & Livestock.** 3: 40-41.

van Saun, R.J. 2000. **Blood profiles as indicator of nutritional status**. In: Proceedings of the 18th Annual Western Canadian Dairy Seminar, Red Deer, Alta, Canada.

van Weerden, E.J. and J.B. Schutte. 1982. Comparison of DL-methionine, DL-methionine-Na, DL-methionine hydroxy analog-Ca and DL-methionine hydroxy analoge-free acid with layer. **Poult. Sci.** 63: 1793-1799.

———————— .,———————— and H.L. Bertran. 1983. DL-methionine and DL-methionine hydroxy analogue free acid in broiler diets. **Poult. Science**. 62 :1269-74.

Wagner, M.S., J.L. Kelley, E.C. Nelson, P. Alaupovic and R.H. Thayer. 1978. Lipid metabolism in laying hen. The relation of plasma lipids and liver fatty acid synthetase activity to changes in liver composition. **Poult. Sci.** 57: 959-967.

Waldroup, P.W., C.J. Mabray, J.R. Blackman, P.J. Slater, R.J. Short and Z.B. Johnson. 1981. Effectiveness of the free acid of methionine hydroxy analogue as methionine supplement in broiler diets. **Poult. Sci**. 60: 438-443.

————————,. J.H. Kersey and C.A. Fritts. 2002. Influence of branched-chain amino acid in broiler diets. **International Journal of Poultry Science**. 1(5) : 136-144.

Wallis, I.R. 1999. Dietary supplements of methionine increase breast meat yield and decrease abdominal fat in growing broiler chickens. **Aus. J. Exp. Agr**. 39: 131-141.

Washburn, K.W., R.A. Guill and H.W Jr. Edwards. 1975. Influence of genetic differences in feed efficiency on carcass compositions of young chickens. **J. Nutr.** 105: 1311-1317.

Whitaker, H.M.A., A.A. Mendes, E.A. Garcia, R.O. Roca, Jr. J.C. Varolli and E.P.B. Saldanha. 2002. Effect of methionine suplplementation on performance and carcass yield of broiler chickens. **Brazilian J. of Poultry Science**. 4:1-9.

Wideman, R.F. and Y.K. Kirby. 1995. Evidence of ventilation-perfusion mismatch during acute unilateral pulmonary artery occlusion in broiler. **Poult. Sci.** 74: 1209-1217.

Williams, K. and G. Pujol. 2001. **Nutrient deficiency associated with now HIV medication**. AIDS Suvival Project.

Wilson J.B., R.J. Julian and I.K. Barker 1988. Lesions of right heart failure and ascites in broiler chickens. **Avian Dis**. 32: 392-403.

Witzel, D.A., W.E. Huff, L.F. Kubena, R.B. Harvey and M.H. Elissalde. 1990. Ascites in growing broiler; a research model**. Poult. Sci.,** 69: 741-45.

Yahav, S. 2000. Relative humidity at moderate ambient temperatures: its effect on male broiler chickens and turkeys**. Br. Poult. Sci**. 41: 94-100.

Yokogoshi, H., T. Iwatas, K. Ishida and A. Yoshida. 1987. Effect of amino acid supplementation to low protein diet on brain and plasma levels of tryptophan and brain 5-hydroxyindoles in rats. **J. Nutr**. 117: 42-47.

Zubair A.K. and S. Leeson. 1994. Effect of early feed restriction and realimentation on heat production and changes in sizes of digestive organs of male broiler. **Poult. Sci**. 73: 529-538.

ภาคผนวก

<u>การคำนวณ</u>

1. น้ำหนักตัวที่เพิ่ม (Weight gain: WG)

คือ ความแตกต่างของน้ำหนักเมื่อเริ่มทดลอง ถึงน้ำหนักสิ้นสุดการทดลอง

น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น = น้ำหนักสิ้นสุด - น้ำหนักเริ่มต้น

2. อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed Conversion Rate: FCR)

คือ ปริมาณอาหารทั้งหมดที่สัตว์กินเข้าไป ทำให้น้ำหนักของสัตว์เพิ่มขึ้นได้ 1 หน่วย

$$\text{อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่กินทั้งหมด}}{\text{น้ำหนักตัวที่เพิ่ม}}$$

หน่วยเป็นอัตราส่วน ทั้งสองค่ายิ่งต่างกันน้อยยิ่งดี

3. อัตราการเจริญเติบโต (Average Daily Gain: ADG)

คือ ความแตกต่างของน้ำหนัก เริ่มต้น และสิ้นสุดต่อระยะเวลาในการเลี้ยง

$$\text{อัตราการเจริญเติบโต} = \frac{\text{น้ำหนักสิ้นสุด - น้ำหนักเริ่มต้น}}{\text{ระยะเวลาที่เลี้ยง}}$$

4. การใช้ประโยชน์ได้ของสารอาหาร (Nutrient avialibility)

$$\text{การใช้ประโยชน์ได้ของสารอาหาร} = \frac{(\text{สารอาหารที่กินเข้าไป - สารอาหารที่ออกมากับมูล}) \times 100}{\text{สารอาหารที่กินเข้าไป}}$$

<u>สภาพแวดล้อมภายในโรงเรือน</u>

<u>ตารางผนวกที่ 1</u> อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ภายในโรงเรือนของการทดลองที่ 2 อายุ 14 - 21 วัน

วันที่	อายุ	อุณหภูมิ		ความชื้นสัมพัทธ์		หมายเหตุ
		ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด	
0	13	28	29	-	91	ปรับสภาพ
0	14	27	28	68	92	
1	15	26	28	75	92	ระหว่างการเลี้ยง 7 วัน
2	16	24	25	59	60	
3	17	24	25	67	68	
4	18	24	25	68	75	
5	19	28	29	70	84	
6	20	24	29	61	84	
7	21	24	29	76	84	
ค่าเฉลี่ย		**25.44**	**27.44**	**68.00**	**81.11**	

<u>ตารางผนวกที่ 2</u> อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ภายในโรงเรือนของการทดลองที่ 2 อายุ 35 - 42 วัน

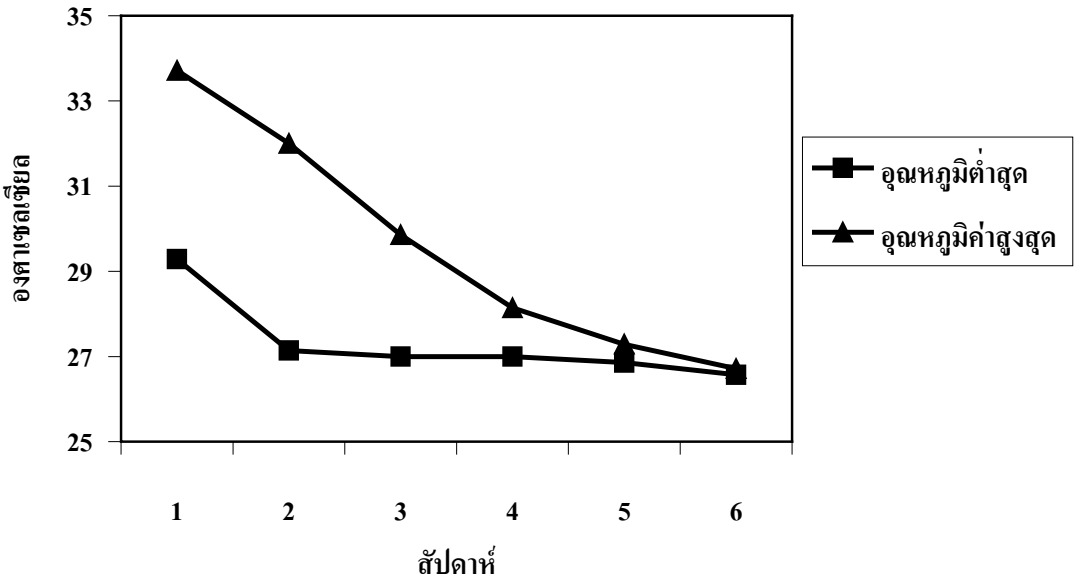
วันที่	อายุ	อุณหภูมิ		ความชื้นสัมพัทธ์		หมายเหตุ
		ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด	
0	34	24.1	31.2	42	76	ปรับสภาพ
0	35	23.1	24.1	54	66	
1	36	24.1	25.1	57	82	ระหว่างการเลี้ยง 7 วัน
2	37	25.1	25.4	72	76	
3	38	24.5	24.6	54	69	
4	39	22.9	24.7	54	76	
5	40	24.2	24.6	55	76	
6	41	23.8	24.4	52	74	
7	42	25.3	25.6	62	72	
ค่าเฉลี่ย		**24.12**	**25.52**	**55.78**	**74.11**	

<u>ตารางผนวกที่ 3</u> อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ต่ำสุด สูงสุดภายในโรงเรือนระบบปิดที่ควบคุมสภาพแวดล้อมด้วยระบบไอน้ำ (Evaporative cooling system) อายุ 0 - 21 วัน

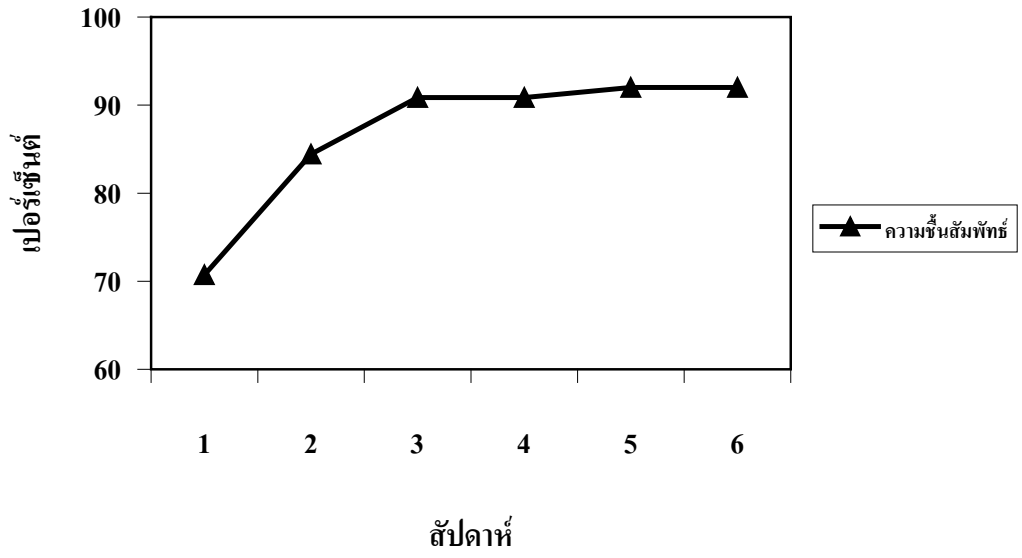
อายุ	อุณหภูมิต่ำสุด (องศาเซลเซียล)	อุณหภูมิค่าสูงสุด (องศาเซลเซียล)	ความชื้นสัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์)
1	32	34	78
2	33	34	73
3	33	34	72
4	28	33	72
5	28	34	73
6	28	34	61
7	23	33	66
8	26	32	85
9	28	32	92
10	27	32	84
11	28	32	78
12	27	32	84
13	27	32	84
14	27	32	84
15	27	32	84
16	27	32	92
17	27	28	92
18	27	28	92
19	27	32	92
20	27	28	92
21	27	29	92
ค่าเฉลี่ย	**27.81**	**31.86**	**82.00**

<u>ตารางผนวกที่ 4</u> อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ต่ำสุด สูงสุดภายในโรงเรือนระบบปิดที่ควบคุมสภาพแวดล้อมด้วยระบบไอน้ำ (Evaporative cooling system) อายุ 22-42 วัน

อายุ	อุณหภูมิต่ำสุด (องศาเซลเซียล)	อุณหภูมิค่าสูงสุด (องศาเซลเซียล)	ความชื้นสัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์)
22	27	28	92
23	27	28	92
24	27	28	92
25	27	30	84
26	27	29	92
27	27	27	92
28	27	27	92
29	27	27	92
30	27	27	92
31	27	27	92
32	27	27	92
33	24	28	92
34	28	28	92
35	28	27	92
36	27	27	92
37	26	26	92
38	27	27	92
39	27	27	92
40	27	27	92
41	26	27	92
42	26	26	92
ค่าเฉลี่ย	**26.81**	**27.38**	**91.62**



ภาพผนวกที่ 1 แสดงอุณหภูมิต่ำสุด และสูงสุดต่ำในโรงเรือนระบบปิดในแต่ละสัปดาห์



ภาพผนวกที่ 2 แสดงเปอร์เซ็นต์ความชื้นสัมพัทธ์ในโรงเรือนระบบปิดในแต่ละสัปดาห์

การวิเคราะห์หาไตรกลีเซอร์ไรด์ด้วย Enzymatic Colorimetric Method โดยใช้ชุดทดสอบของ บริษัท Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH

หลักการทำปฏิกิริยา

$$\text{Triglyceride} \xrightarrow{\text{Lipase}} \text{Glycerol + Fatty acids}$$

$$\text{Glycerol + ATP} \xrightarrow{\text{GK}} \text{Glycerol- 3- phosphate + ADP}$$

$$\text{Glycerol- 3- phosphate + } O_2 \xrightarrow{\text{GPO}} \text{Dihydroxyacetone Phosphate + } H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{4- Aminoantipyrine + 4-Chlorophenol} \xrightarrow{\text{POD}} \text{Quinoneimine dye + HCl+}H_2O$$

GK = Glycerol Kinase

GPO = Glycerol Phosphate Oxidase

POD = Peroxidase

H_2O_2 = Hydrogen peroxide

สาร Working reagent ประกอบด้วย

1.	PIPES Buffer (pH 7.0)	50 mmol/l
2.	4 - Chlorophenol	5 mmol/l
3.	4 - Aminoantipyrine	0.25 mmol/l
4.	Magnesium ions	4.5 mmol/l
5.	ATP	2 mmol/l
6.	Lipasen	$\geq$ 1.3 U/ml
7.	Peroxidase	$\geq$ 0.5 U/ml
8.	Glycerolkinase	$\geq$ 0.4 U/ml
9.	Glycerol-3-Phosphate Oxidase	$\geq$ 1.5 U/ml

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน

Triglycerides 200 mg/dl หรือ 2.28 mmol/l

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. หลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตร
2. ไมโครปิเปตขนาดที่สามารถดูดสารละลายปริมาตร 10 และ 1,000 ไมโครลิตร
3. Water bath ที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 37 ± 2 องศาเซลเซียส
4. เครื่อง Vortex mixer
5. เครื่อง Spectrophotometer ที่สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 546 นาโนเมตร
6. Cuvette plastic

วิธีการวิเคราะห์

1. นำสารเคมีและตัวอย่างมาไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อนทำการวิเคราะห์ (15-28 องศาเซลเซียส)
2. เขียนฉลากติดหลอดทดลอง Blank Standard และ Sample
3. เติม Working reagent 1,000 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง Blank Standard และ Sample
4. เติมน้ำกลั่นลงในหลอด blank เติมสารละลายมาตรฐานลงในหลอดทดลอง standard และ เติมตัวอย่างลงในหลอด Sample ปริมาณ 10 ไมโครลิตร
5. เขย่าให้เข้ากันโดยใช้เครื่อง Vortex mixer นาน 30 วินาที
6. นำไปตั้งไว้ใน Water bath ที่ตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที
7. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีด้วย Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 546 นาโนเมตร

การคำนวณความเข้มข้น

$$\text{ไตรกลีเซอร์ไรด์ (mg/dl)} = \frac{\text{ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่าง} \times \text{ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน}}{\text{ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน}}$$

การวิเคราะห์ Triiodothironine:T3 ในซีรั่ม โดยใช้ Solid-phase ^{125}I Radioimmunoassay

หลักการ

การตรวจโดยเทคนิคนี้ ใช้สมบัติการเลือกจับอย่างจำเพาะระหว่างฮอร์โมน ซึ่งทำหน้าที่เหมือนแอนติเจน กับแอนติบอดีฮอร์โมน โดยใช้วิธีการยับยั้งแบบแข่งขัน (Competitive inhibition) ระหว่างฮอร์โมนที่ติด และไม่ติดฉลากกัมมันตภาพรังสี กับแอนติบอดี โดยสารกัมมันตภาพรังสีที่ใช้ติดฉลากฮอร์โมนคือ ไอโอดีน ชนิด ^{125}I ซึ่งสามารถให้รังสีแกมม่าที่มีอำนาจทะลุทะลวงสูง จึงทำให้ตรวจหาฮอร์โมนในระดับต่ำ ๆ ได้ดี การตรวจวิธีนี้จะหยดทั้งสารละลายมาตรฐานของฮอร์โมน และตัวอย่างที่ต้องการตรวจหาระดับฮอร์โมนไปพร้อม ๆ กัน โดยเติมแอนติบอดี และฮอร์โมนที่ติดฉลาก ^{125}I ในจำนวนที่แน่นอนลงไป แล้วนำไปรวมกับตัวอย่างสารที่ต้องการตรวจหาระดับฮอร์โมน และใช้เวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสม จากนั้นทำการแยกฮอร์โมนที่ติดฉลาก ^{125}I ที่อยู่ในรูปอิสระ และจับกับแอนติบอดีจากกันโดยการแยกตะกอนออกมา แล้วนำค่ากัมมันตภาพรังสีที่ได้ ไปเทียบกับค่าจากกราฟที่ได้

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่อง Gamma Counter ที่ใช้กับหลอดขนาด 12 × 75 มิลลิเมตร
2. เครื่อง Vortex mixer
3. เครื่อง Centrifuge ที่ควบคุมอุณหภูมิและความเร็วรอบ 3,000 ×g
4. หลอด Polypropylene ขนาด 12 × 75 มิลลิเมตร
5. ไมโครปิเปต ขนาด 100 และ 1,000 ไมโครลิตร
6. เครื่อง Water bath ควบคุมอุณหภูมิ
7. น้ำกลั่นเพื่อใช้กับหลอด NSB
8. บีกเกอร์ และแท่งแก้ว สำหรับการเตรียม Working solution
9. Deionized water สำหรับการเตรียม Calibrators
10. ที่วางหลอดทดลองชนิดโฟม (Foam decanting rack)
11. Volume metric pipets ขนาด 2.0 5.0 และ 7.7 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. ^{125}I Total T3
2. Total T3 Calibrators มีปริมาณ T3 เท่ากับ 0, 20, 50, 100, 200 และ 600 นาโนกรัม/เดซิลิตร
3. หลอด Polypropylene ที่เคลือบด้วยแอนติบอดี และ T3 (Total T3 Ab Coated Tubes)

วิธีการวิเคราะห์

สารเคมีทุกชนิดควรอยู่ที่อุณหภูมิห้อง (15-28 องศาเซลเซียส) ก่อนทำการวิเคราะห์

1. เขียนฉลากติดหลอด Polypropylene ขนาด 12 × 75 มิลลิเมตร จำนวน 2 หลอด คือ T (Total Count) และ NSB (Nonspecific binding)
2. เขียนฉลากติดหลอดที่เคลือบด้วยแอนติบอดีและ T3 ซึ่งประกอบด้วยหลอด A ถึง F และตัวอย่างที่ต้องการหาระดับฮอร์โมน
3. ใช้ไมโครปิเปต ขนาด 100 ไมโครลิตร ดูด Zero calibrators (A) เติมลงในหลอด NSB และหลอด A เติม Calibrators B-F และตัวอย่างลงในหลอดที่ติดฉลากไว้
4. เติม ^{125}I Total T3 1 มิลลิลิตร ลงในทุกหลอด จากนั้นเขย่าด้วยเครื่อง Vortex (หลอด T หลังจากเสร็จสิ้นขั้นตอนนี้ ให้ผ่านไปยังขั้นตอนที่ 7)
5. นำทุกหลอด ยกเว้นหลอด T ไปอุ่นใน Water bath ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง
6. เทสารละลายส่วนบนออก ยกเว้นหลอด T แล้วคว่ำหลอดไว้ให้สารละลายไหลออกให้หมด เป็นเวลา 2-3 นาที
7. นำไปนับด้วยเครื่อง Gamma Counter เวลา 1 นาทีในการนับ โดยใช้ช่อง ^{125}I เพื่อหา T3

การคำนวณ

1. นำค่าที่นับได้ไปคำนวณด้วยโปรแกรม GMS Version 3.05 หรือ
2. นำค่าที่ได้ไปคำนวณโดย

ค่านับได้สุทธิ = ค่าที่นับได้ – ค่าที่นับได้จากหลอด NSB

% Bound = (ค่าที่นับได้สุทธิ / ค่าที่นับได้สุทธิของหลอด A) × 100

นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟในกระดาษ Logit – log โดยให้แกน X เป็น % Bound และแกน Y เป็นค่าความเข้มข้นของ Calibrators A-F ลากให้เป็นเส้นตรงผ่านจุด ทราบค่าความเข้มข้นของตัวอย่าง โดยการนำ % Bound มาใส่ในกราฟ แล้วอ่านค่าความเข้มข้น

การวิเคราะห์กรดไขมันอิสระโดยวิธี salting- out technique for colorimetric (Smith, 1975)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. บีกเกอร์ ขนาด 50 100 250 และ 400 มิลลิลิตร
2. แท่งแก้ว
3. กระบอกตวง ขนาด 10 25 50 และ 100 มิลลิลิตร
4. Volumetric Flask ขนาด 1000 มิลลิลิตร
5. ขวดชมพู่ ขนาด 200 มิลลิลิตร
6. ปิเปต ขนาด 1 มิลลิลิตร
7. หลอดทดลองฝาเกลียว
7. Water bath ที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 37 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส
8. เครื่อง Vortex mixer
9. เครื่อง Spectrophotometer ที่สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 546 นาโนเมตร
10. ไมโครปิเปตขนาดที่สามารถดูดสารละลายปริมาตร 10 และ 1,000 ไมโครลิตร
8. เครื่อง Centrifuge
9. Cuvette glass

สารเคมี

1. คลอโรฟอร์ม (Chloroform)
2. เฮปเทน (Heptane)
3. เมทธานอล (Methanol)
4. เอทธานอล (Ethanol)
5. กรดไฮโดรคลอริคเข้มข้น (Conc. HCl)
6. Na_2SO_4
7. $LiSO_4$
8. $Co(NO_3)_2.6H_2O$
9. ไตรเอทธาโนลามีน (Triethanolamine)

10. 1-ไนโตรโซ-2-แนปธอล (1-Nitroso-2 -naphthol)
11. กรดไขมันโอลิอิค (Oleic acid) ความหนาแน่น 0.89 กรัมต่อมิลลิลิตร

วิธีการเตรียมสารเคมี

1. Working solution ทำโดยผสมคลอโรฟอร์ม เฮปเทนและเมทธานอล ในอัตราส่วน 4:3:2 (โดยปริมาตร) เตรียมก่อนใช้ โดยผสมเฮปเทนและเมทธานอลก่อน แล้วตามด้วยคลอโรฟอร์ม
2. กรดไฮโดรคลอริค ความเข้มข้น 0.035 N เตรียมโดยใช้ 3 มิลลิลิตรของกรดไฮโดรคลอริคเข้มข้น ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร (สามารถเก็บไว้ใช้ได้โดยไม่จำกัดเวลา)
3. Stock salt solution เตรียมโดยนำ $Co(NO_3)_2.6H_2O$ 40 กรัม Na_2SO_4 200 กรัม และ $LiSO_4$ 100 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร เก็บไว้ในขวดสีชา
4. Salt reagent เตรียมโดยนำ Stock salt solution ที่เตรียมได้ในข้อ 3 จำนวน 100 มิลลิลิตรมาผสมกับ 8 มิลลิลิตรของไตรเอทธาโนลามีน (เตรียมก่อนใช้อย่างน้อย 15 นาที)
5. เตรียมเอทธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ โดยตวงเอทธานอลมา 95 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
6. Indicator solution โดยใช้ 0.2 กรัมของ 1-ไนโตรโซ-2-แนปธอลละลายในเอทธานอล 95 % จากข้อ 5 ในปริมาตร 1 ลิตร เก็บไว้ในขวดสีชาสามารถเก็บไว้ได้โดยไม่จำกัดเวลา

วิธีการวิเคราะห์

1. ใช้ปิเปตดูด Working solution จำนวน 4 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองฝาเกลียวที่สะอาด
2. เติมสารละลายตัวอย่าง 100 ไมโครลิตรลงในหลอดจากข้อ 1 (ในกรณีที่เป็น Blank ใช้เฮปเทนใส่แทนสารละลายตัวอย่าง) ปิดฝาหลอดทดลองเขย่าด้วย Voltex mixer เป็นเวลา 1 นาที
3. จากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริค 0.035 N 1 มิลลิลิตรในหลอดทดลองแล้วปิดฝาหลอด เขย่าด้วย Voltex mixer อีก 3 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 2,200 รอบต่อนาที นาน 3 นาที
4. สารละลายจะแยกเป็น 2 ชั้น ดูดสารละลายชั้นบนออกไปทิ้งเลย (ในกรณีที่ตัวอย่างเป็นพลาสมาหรือซีรั่มให้ระวังการดูดสารละลายอย่าให้กระทบชั้นโปรตีนที่คั่นระหว่างสารละลายชั้นบนและชั้นล่าง)

5. จากนั้นเติม Salt reagent 2 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอดทดลอง เขย่าเป็นเวลา 3 นาทีแล้วจึงนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 2,200 รอบต่อนาที นาน 5 นาที

6. สารละลายจะแยกเป็น 2 ชั้น จากนั้นดูดสารละลายชั้นบนออกมาใส่ในหลอดทดลองที่สะอาด 2 มิลลิลิตรแล้วเติม Indicater solution 1 มิลลิลิตร เขย่าเบา ๆ 3-5 ครั้งด้วยมือ

7. ทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที เพื่อให้สารละลายเกิดปฏิกิริยาจนสมบูรณ์ ถ่ายสารละลายไปยัง Cuvette glass นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ 435 นาโนเมตร ค่าที่ได้นำไปคำนวณปริมาณกรดไขมันอิสระโดยเทียบกับ Standard curve ที่ได้จากกรดไขมันโอลิอิค

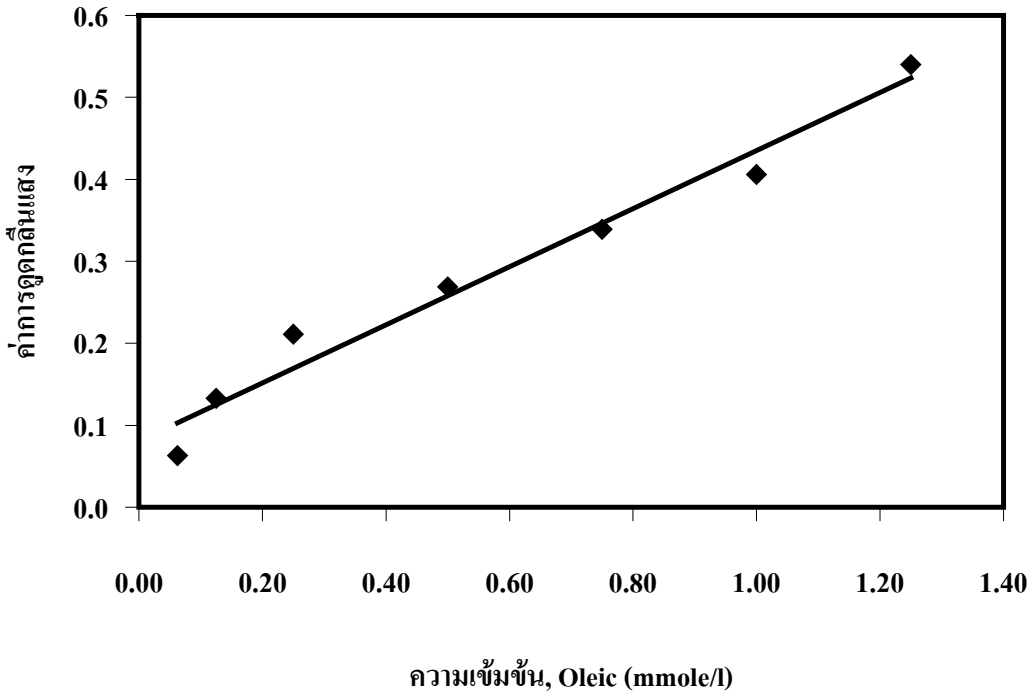
การทำ standard curve

ละลายกรดไขมันโอลิอิคในเฮปเทน ให้มีความเข้มข้น 0.0625 0.125 0.25 0.5 0.75 1.00 และ 1.25 mmol /l นำสารละลายผสมที่ได้ไปวิเคราะห์ตามวิธีการวิเคราะห์กรดไขมันอิสระที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ค่าดูดกลืนแสงที่ได้นำไปพล็อตกับค่าความเข้มข้นของกรดไขมันจะได้ standard curve ที่ใช้ในการหาปริมาณกรดไขมันอิสระในตัวอย่างต่าง ๆ ได้

ในการทำ standard curve ครั้งนี้ค่าของการดูดกลืนแสง ได้จากสารละลายกรดไขมันโอลิอิคที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปรากฏดังในตารางที่ 5 และเมื่อนำไปเขียนกราฟจะได้ดังในภาพที่ 3 โดยให้ความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระเป็นแกน Y และการดูดกลืนแสงเป็น แกน X

ตารางผนวกที่ 5 ค่าความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระและค่าการดูดกลืนแสง

ความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระ (mmol/l)	ค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 435 นาโนเมตร
0.0625	0.063
0.125	0.133
0.25	0.211
0.5	0.269
0.75	0.339
1.00	0.406
1.25	0.540



<u>ภาพผนวกที่ 3</u> แสดงความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายกรดไขมันชนิดกรดโอลิอิค ในความเข้มข้นต่าง ๆ

จากรูปที่ 1 ค่า linear regression มีสมการเป็นดังนี้

$$Y = 0.3542X - 0.0809$$

$$R^2 = 0.9708$$

โดย Y เป็นความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระ มีหน่วยเป็น mmol / l

X เป็นค่าการดูดกลืนแสงที่ 435 นาโนเมตร

สมการนี้มีค่า correlation coefficient 0.97

<u>วิธีการวิเคราะห์ค่ากรดยูริคในพลาสมาแบบวิธี Phosphotungstate Carbonate</u>

หลักการ

ในภาวะที่เป็น Alkaline uric acid จะถูกออกซิไดซ์ด้วย Phosphotungstate เป็น Allantoin ขณะเดียวกันที่ Phosphotungstate จะถูกรีดิวซ์ได้เป็น Tungsten Blue ซึ่งนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. หลอดทดลองขนาด 6 มิลลิลิตรและขนาด 12 × 75 มิลลิลิตร
2. ไมโครปิเปตขนาดที่สามารถดูดสารละลายปริมาตร 200 และ 1,000 ไมโครลิตร
3. ปิเปต ขนาด 1 มิลลิลิตร
4. เครื่อง Centrifuge
5. เครื่อง Vortex mixer
6. เครื่อง Spectrophotometer ที่สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตร
7. Cuvette plastic

สารเคมี

1. Phosphotungstic acid
2. Sodium carbonate

วิธีการวิเคราะห์

1. นำสารเคมีและตัวอย่างมาไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อนทำการวิเคราะห์ (15-28 องศาเซลเซียส)
2. เขียนฉลากติดหลอดทดลองขนาด 6 มิลลิลิตร (Blank และ Sample)
3. เติม Phosphotungstic acid จำนวน 2 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง
4. เติมน้ำกลั่นลงหลอด Blank และ เติมตัวอย่างลงในหลอด Sample ปริมาณ 200 ไมโครลิตร

5. เขย่าเบา ๆ เพื่อให้ทำปฏิกิริยา โดยใช้มือเขย่า และไม่ควรใช้เครื่อง Vortex mixer เพราะจะทำให้ตะกอนโปรตีนแตกกระจายมาก (การตกตะกอนเพื่อเอาโปรตีนออกนั้น หากเขย่าแรงด้วยเครื่อง Vortex mixer ตะกอนจะกระจาย เมื่อเท Supernatant ลงในหลอดทดลองใหม่โปรตีนจะลงไปด้วย อย่างไรก็ตามเมื่อตั้งทิ้งไว้ตะกอนจะตกลงไปที่ก้นหลอดซึ่งสามารถนำไปวัดค่าได้)

6. ตั้งไว้ 15 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนด้วยเครื่อง Centrifuge ประมาณ 5 - 10 นาที

7. ดูดส่วน Supernatant ลงในหลอดทดลองขนาด 12 × 75 มิลลิลิตรจนหมด อย่าให้ตะกอนโปรตีนฟุ้ง

8. เติม Sodium carbonate จำนวน 1 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่อง Vortex mixer ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที เพื่อให้สารละลายเกิดปฏิกิริยาจนสมบูรณ์

9. ถ่ายสารละลายไป Cuvette plastic นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร

10. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณปริมาณกรดยูริคโดยเทียบกับ Standard curve ที่ได้

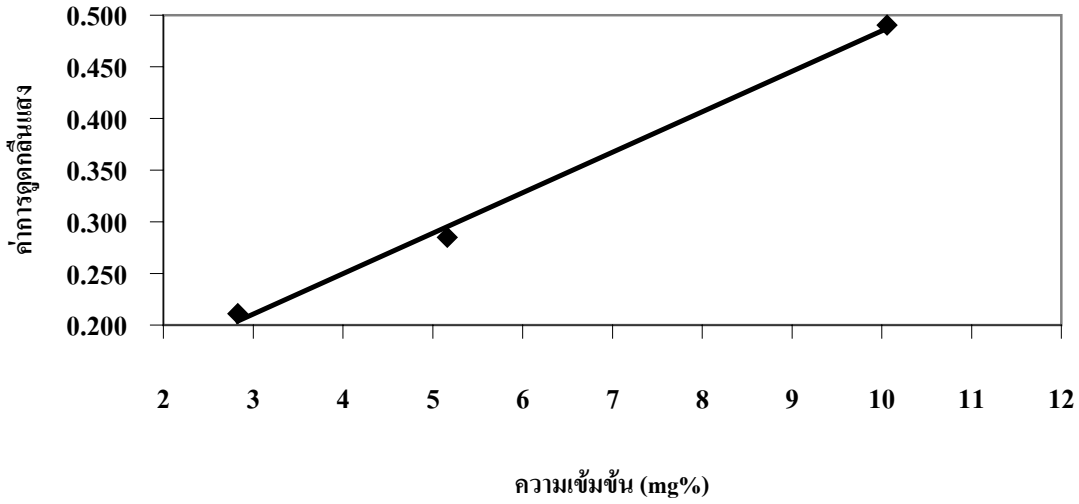
การทำ standard curve

ใช้สารละลายกรดยูริคมาตรฐาน (Uric acid standard solution, No. 11301 - S3) ชนิด Ready for use สำหรับทำ standard curve ของกรดยูริคเท่านั้น โดยมีความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 2.83 5.16 และ 10.06 mg% ซึ่งเป็นค่า Assay ของวิธีการวิเคราะห์เดียวกัน นำสารละลายแต่ละความเข้มข้นไปวิเคราะห์ตามวิธีการวิเคราะห์กรดยูริคดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้นำไปพล็อตกับค่าความเข้มข้นของกรดยูริคจะได้ standard curve ที่ใช้ในการหาปริมาณกรดยูริคในตัวอย่างต่าง ๆ ได้

ในการทำ standard curve ครั้งนี้ค่าของการดูดกลืนแสงได้จากสารละลายที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปรากฏดังในตารางที่ 6 และเมื่อนำไปเขียนกราฟจะได้ดังในภาพที่ 4 โดยให้ความเข้มข้นของกรดยูริคเป็นแกน Y และการดูดกลืนแสงเป็น แกน X

ตารางผนวกที่ 6 ค่าความเข้มข้นของกรดและค่าการดูดกลืนแสง

ความเข้มข้นของกรดยูริค (mg%)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร
2.83	0.211
5.16	0.285
10.06	0.491



ภาพผนวกที่ 4 แสดงความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายกรดยูริคใน ความเข้มข้นต่าง ๆ

จากภาพผนวกที่ 4 ค่า linear regression มีสมการเป็นดังนี้

$$Y = 25.433X - 2.3466$$

$$R^2 = 0.9961$$

โดย Y เป็นความเข้มข้นของกรดยูริค มีหน่วยเป็น mg%

X เป็นค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตร

สมการนี้มีค่า correlation coefficient 0.996

<u>วิธีการวัดค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH)</u>

หลักการ

เครื่อง pH จะวัดความต่างศักย์ไฟฟ้าที่เกิดขึ้นระหว่างอิเล็กโทรดทั้ง 2 คือ อิเล็กโทรดแก้วและอิเล็กโทรดมาตรฐาน ศักย์ไฟฟ้าของอิเล็กโทรดแก้วจะเปลี่ยนแปลงไปตามความเป็นกรด – ด่างของสารละลาย ซึ่งไวต่อการเปลี่ยนแปลง (H^+) แต่ไม่ไวต่อไอออนชนิดอื่น ส่วนอิเล็กโทรดมาตรฐานจะให้ศักย์ไฟฟ้ามาตรฐาน

ความเป็นกรด – ด่างเป็นปัจจัยสำคัญในการช่วยละลายสารต่างๆ ซึ่งการหาค่า pH นี้เป็นการหาจำนวนของ H^+ กับ OH^- ในหน่วยกรัมสมมูลต่อลิตร (gmE/liter) น้ำบริสุทธิ์จะมีค่าคงที่ K เท่ากับ 10^{-14} ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ดั้งนั้นที่ความเป็นกลาง $(H^+) = (OH^-) = 10^{-7}$ ค่าของ pH จะออกมาในรูปลอกกาลิทึม คือ $pH = -\log (H^+)$

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter)
2. บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร
3. กระปุกมีฝาปิดขนาด 10 มิลลิลิตร
4. กระบอกตวง
5. แท่งแก้ว
6. เครื่องชั่งดิจิตอล
7. เครื่อง Vortex mixer
8. นาฬิกาจับเวลา
9. กระดาษทิชชู

สารเคมี

1. สารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน pH 7.0$\pm$0.02 และ 4.01$\pm$0.01 อุณหภูมิ 25 $^\circ$C
2. น้ำกลั่น Deionized

วิธีการวิเคราะห์

1. สอบเทียบเครื่อง pH meter ก่อนทำการวัดความเป็นกรด - ด่างทุกครั้ง
2. ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง (อาหาร มูล และ Digesta) ที่ต้องการวัดค่าความเป็นกรด – ด่าง ในกระปุก
3. ตวงน้ำกลั่น Deionized ปริมาณ 3 เท่า เพื่อเจือจางตัวอย่าง อัตราส่วน (ตัวอย่าง : น้ำกลั่น เท่ากับ 1:3) แล้วปิดฝากระปุก
4. นำมาเขย่าด้วยเครื่อง Vortex mixer นาน 1 นาที
5. นำไปวัดค่า pH โดยเครื่อง pH meter ใช้เวลา 30 วินาที โดยวัดส่วนข้างบนที่เป็นน้ำใส ๆ
6. ก่อนวัดตัวอย่างต่อไป ต้องล้างหัวอิเลคโทรดด้วยน้ำกลั่น Deionize ใช้กระดาษทิชชูซับน้ำออก แต่ไม่ควรเช็ดอิเลคโทรดให้แห้ง เพราะอาจทำให้เกิดไฟฟ้าสถิตย์ที่ผิวของอิเลคโทรด

การสอบเทียบเครื่อง pH

1. สอบเทียบโดยใช้สารละลายมาตรฐาน 2 จุด คือ pH 7.0 และ 4.01
2. ล้างหัวอิเลคโทรดด้วยน้ำกลั่น Deionize ใช้กระดาษทิชชูซับน้ำออก แต่ไม่ควรเช็ดอิเลคโทรด
3. จุ่มอิเลคโทรดในสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน pH 7.0 แล้วปรับค่าให้ตรงกับสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน
4. จากนั้นล้างหัวอิเลคโทรดให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น Deionize ใช้กระดาษทิชชูซับน้ำออก
5. จุ่มอิเลคโทรดในสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน pH 4.01 แล้วปรับค่าให้ตรงกับสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน
6. ล้างหัวอิเลคโทรดให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น Deionize ระหว่างที่รอวัดค่าให้จุ่มหัวอิเลคโทรดไว้ในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่น Deionize อยู่

<u>วิธีการหาค่าการอัดแน่นของเม็ดเลือดแดง (Pack cell volume:PCV หรือ Haematocrit)</u>

ความหมาย

คือ ค่าเปอร์เซ็นต์สัมพันธ์ของปริมาตรเม็ดเลือดแดงในเลือดต่อปริมาตรเลือดทั้งหมด ที่ได้จากการคำนวณสัดส่วนระหว่างปริมาตรเป็นมิลลิลิตรของเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Packed red blood cells) ต่อปริมาตร เป็นมิลลิตรทั้งหมดของตัวอย่างเลือด มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ ค่าดังกล่าวเป็นดัชนีแสดงถึงความเข้มข้นของเม็ดเลือดแดงในเลือด การหาค่า Haematocrit อาจกระทำได้ 2 วิธี คือ

1. คำนวณหาจากค่า MCV และ RBC count ที่วัดได้โดยเครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ
2. ปั่น (Centrifugation) ตัวอย่างเลือด เพื่อหาสัดส่วนระหว่างปริมาตรของเม็ดเลือดแดงอัดแน่นต่อปริมาตรทั้งหมดของตัวอย่างเลือด (ค่าที่ได้อาจแตกต่างจากการคำนวณข้างต้น)

หลักการ

แรงหมุนเหวี่ยงของเครื่องปั่น (Centrifuge) สามารถแยกส่วนต่างๆ ของเลือดออกจากกันตามความแตกต่างของน้ำหนัก เซลล์เม็ดเลือดและเกล็ดเลือดมีความหนาแน่นสูงกว่า จึงแยกออกจากชั้นของพลาสม่าแล้วเคลื่อนลงสู่ก้นหลอด (ทิศทางเข้าสู่แกนกลางของเครื่องปั่น) เม็ดเลือดแดงมีขนาดเล็กกว่าสามารถผ่านลงสู่ก้นหลอดและอัดแน่นอยู่ล่างสุด เม็ดเลือดขาว เกล็ดเลือด และเม็ดเลือดแดงที่มีนิวเคลียส กระจุกตัวรวมเป็นชั้นเรียกว่า buffy coat อยู่เหนือเม็ดเลือดแดงอัดแน่น และชั้นบนสุดคือพลาสม่าเป็นของเหลวสีเหลือง

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. หลอด Heparinized capillary
2. หลอดใส่เลือดที่เคลือบสาร Heparinized
3. ดินน้ำมัน
4. เครื่อง Haematocrit centrifuge
5. เครื่อง Microhaematocrit Reader

วิธีการวิเคราะห์แบบ Micro – haematocrit

1. เลือด 1 ตัวอย่าง ให้เตรียม Heparinized capillary tube 3 หลอด เพื่อนำมาหาค่ากลาง
2. ผสมตัวอย่างเลือดในหลอดเลือดที่ใส่สารป้องกันการแข็งตัวให้เข้ากัน
3. จุ่มปลายข้างหนึ่งของหลอด Capillary ลงในตัวอย่างเลือด เอียง Capillary tube และหลอดเลือด เพื่อให้เลือดไหลเข้าสู่หลอดตามแรง Capillary action ประมาณ 3 ใน 4 หลอด ใช้นิ้วชี้อุดปลายหลอดด้านบน พร้อมยกออกจากหลอดเลือดตัวอย่าง แล้วเช็ดทำความสะอาดหลอดรอบนอก
4. กดปลายล่างด้านที่บรรจุเลือดของหลอด Capillary ตรงๆ ลงบนดินน้ำมันพร้อมปล่อยนิ้วที่อุดปลายด้านบนออกเพื่อป้องกันการแตกของเม็ดเลือด กดซ้ำลงบนดินน้ำมัน 1-2 ครั้ง
5. ทำเครื่องหมายประจำกลุ่ม แล้วนำมาปั่นด้วยเครื่อง Haematocrit centrifuge ความเร็ว 10,000 – 20,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที
6. นำหลอด Capillary ที่ปั่นแล้วมาวางบนร่องของ Microhaematocrit Reader โดยให้ขอบด้านบนของดินน้ำมัน (ขอบด้านล่างของเม็ดเลือดแดงอัดแน่น) อยู่บนเส้นฐานของ Reader แล้วเลื่อนแผ่นพลาสติก เพื่อให้เส้นทาบขอบด้านบนของพลาสม่าเป็นขีด 100 เปอร์เซ็นต์ แล้วเลื่อน Slider bar (ที่จับสีดำด้านขวาของ ARM) ไปยังขอบระหว่างเม็ดเลือดแดงอัดแน่นและ buffy coat หรือพลาสม่า อ่านค่าเปอร์เซ็นต์ด้านบนของ AMR และบันทึก
7. หาค่ากลาง Haematocrit

<u>วิธีการหาไขมันทั้งหมด (Total lipid)</u>

หลักการ

ไขมันทั้งหมดเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ไม่ละลายน้ำ สามารถสกัด (Extract) ไขมันทั้งหมดออกจากเซลล์และเนื้อเยื่อตับ โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น คลอโรฟอร์ม (Chloroform) เมทธานอล (Methanol) อะซีโตน (Acetone) เป็นต้น ซึ่งการสกัดได้ดัดแปลงจากวิธีของ Folch (1957)

สารเคมี

1. Chloroform
2. Methanol

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ขวดแก้วรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
2. บีกเกอร์
3. แท่งแก้ว
2. กรวยกรอง (Funnel)
3. กรวยกรองแบบแยก (Separatory funnel)
4. Water bath ที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้
5. Round bottom flask
6. กระบอกตวง (Cylinder)
7. กระดาษกรองเบอร์ 1
8. ไมโครปิเปต และDropper
9. เครื่อง Homogenize
10. เครื่อง Vortex mixer
11. เครื่องดูด (Suction)
12. ตู้อบ (Oven)

13. โถดูดความชื้น
14. เครื่องชั่งดิจิตอล

วิธีการวิเคราะห์

1. นำตับที่ได้จากการสุ่มตัวอย่าง ออกจากตู้เย็นปล่อยทิ้งไว้ให้อุณหภูมิสูงขึ้นด้วยอุณหภูมิห้อง
2. ชั่งน้ำหนักตับที่บดแล้ว 3-4 กรัม ใส่ลงในขวดแก้วรูปชมพู่
3. เติม Chloroform : Methanol (2:1 v/v) ลงไป 30 ml ลงในขวดแก้วรูปชมพู่
4. นำไปผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง Homogenize ความเร็ว 20,000 รอบ/นาที นาน 1 นาที
5. เขย่าแรง ๆ ด้วยเครื่อง Vortex mixer เพื่อให้การสกัดไขมันเกิดขึ้นได้สมบูรณ์
6. กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ลงในขวดแก้วรูปชมพู่โดยใช้เครื่องดูด (Suction) ช่วย
7. นำกากที่ได้มาล้างด้วย Chloroform : Methanol (2:1 v/v) จำนวน 30 มิลลิลิตร อีกครั้งหนึ่ง
8. รวมสารละลายที่กรองได้ลงใน Round bottom flask แล้วเทลงในบีกเกอร์ที่ทราบน้ำหนัก
9. นำไประเหยเอา Solvent ออกด้วยเครื่อง Water bath ที่อุณหภูมิประมาณ 60 – 70 องศาเซลเซียล
10. นำไปอบเพื่อไล่ความชื้นที่อุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียล นาน 8 ชั่วโมง แต่อย่าให้ไหม้ เพราะอาจเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นได้
11. ใส่ในโถดูดความชื้น แล้วชั่งหาน้ำหนักของไขมันที่สกัดได้

การวัดความแข็งแรงของกระดูก (Bone breaking strength)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องมือวัดความแข็งแรงของกระดูก ได้แก่ เครื่อง Autograph (universal testing machine) ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น AG 10 TE
2. แท่นทดสอบแรงดัดทำลาย ซึ่งเป็นชุดเครื่องมือสำหรับใช้วัดแรงดัด (3 point bending) ที่สามารถปรับระยะห่างระหว่างจุดรองรับกระดูกความเร็วหัวกด และขนาดหัวกดได้

   ระยะระหว่างจุดรองรับกระดูก (span length) 62.45 มิลลิเมตร

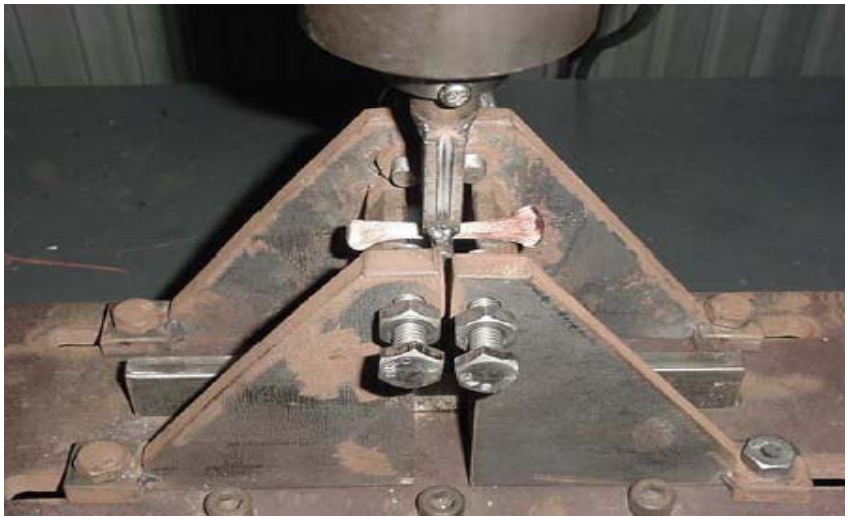
   อัตราเร็วของหัวกด (test speed) 50 มิลลิเมตรต่อนาที

   เส้นผ่าศูนย์กลางหัวกด 6.35 มิลลิเมตร

   น้ำหนักของ Load cell 50 kN/500 kgf
3. รายงานผลออกทางหน้าจอแสดงผล (monitor) เป็นตัวเลข การตั้งค่าเครื่องมือตามวิธีของ Crenshaw *et al*.(1981b) และ Johnson *et al*. (1992)

ขั้นตอนการวัดความแข็งแรงของกระดูก

1. นำกระดูก Tibia ออกมาไว้ที่อุณหภูมิห้องจนกระดูกมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง (ประมาณ 12 ชั่วโมง) จากนั้นนำมาตากไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-3 วัน
2. นำกระดูกที่ละลายจนสมบูรณ์มาวางบนคาน โดยจะวางด้านที่เว้าลงด้านล่างหันเข้าหาพื้นเสมอ ดังภาพผนวกที่ 5
3. เดินเครื่องตามสภาวะเครื่องที่ได้ตั้งไว้
4. อ่านค่าแรงสูงสุดที่ได้ ซึ่งค่าที่ได้นี้เป็นค่ามวลปรากฏ (apparent mass; Mapp.) นำมาเข้าสมการเพื่อให้ได้ค่าแรงที่แท้จริง จากนั้นจึงนำมาคำนวณหาค่าความแข็งแรงของกระดูกต่อไป



<u>ภาพผนวกที่ 5</u> ลักษณะการวางกระดูกเพื่อวัดความแข็งแรงของกระดูก

การสอบเทียบมวลมาตรฐาน (Standard mass, Mstd.)

เพื่อให้ทราบค่าแรงกดที่แท้จริงเนื่องจากค่าที่ปรากฏจะไม่ตรงกับค่าแรงที่แท้จริง ดังนั้นจึงต้องมีการสอบเทียบโดยใช้มวลมาตรฐานที่น้ำหนัก 10-70 กิโลกรัม วิธีการคือ

1. ติดตั้งเครื่องมือให้พร้อมสำหรับการสอบเทียบมวลมาตรฐาน

    1.1 วางมวลมาตรฐานบนเครื่องมือและอ่านค่าแรงที่เกิดขึ้นและค่อย ๆ เพิ่มมวลมาตรฐานเรื่อย ๆ (increase) ทำจนครบน้ำหนักที่ต้องการ

    1.2 ลดน้ำหนักมวลมาตรฐานลง (decrease) อ่านค่าแรงที่ได้อีกครั้ง

2. นำค่าที่ได้ในข้อ 1.1 และ 1.2 มาเฉลี่ย ดังแสดงในตารางภาคผนวกที่ 7
3. จากนั้นนำค่าเฉลี่ยที่ได้จากข้อ 2 ไปสร้างกราฟหาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักของมวลมาตรฐานกับค่ามวลปรากฏ สมการแสดงความสัมพันธ์ดังนี้

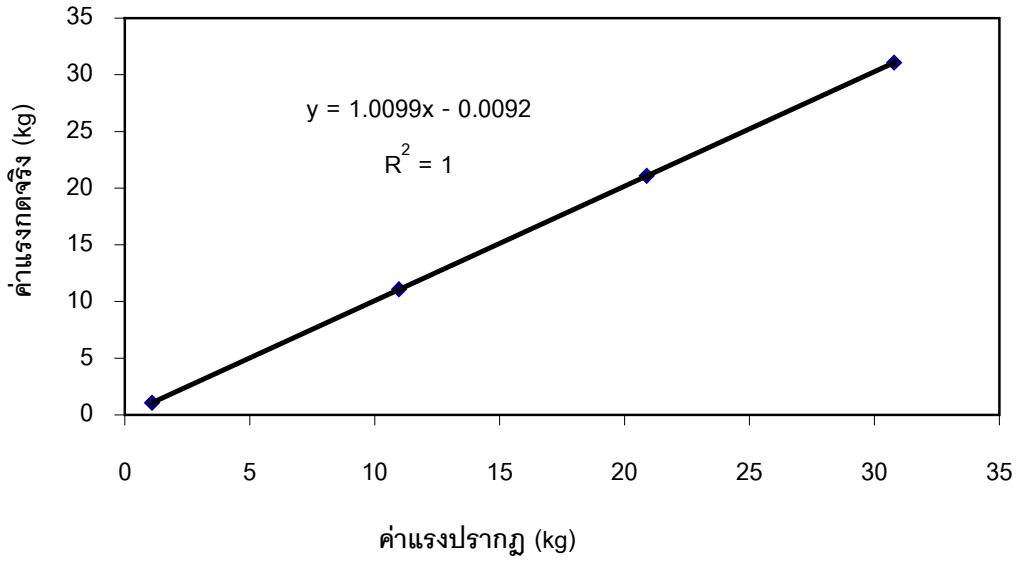
$$Y = 1.0099X - 0.0092$$

โดย Y = มวลมาตรฐาน (Mstd; kg)

X = มวลปรากฏ (Mapp; kg)

ตารางผนวกที่ 7 การสอบเทียบน้ำหนักจากมวลมาตรฐานของกราฟที่มีช่วงระยะห่าง 10 (range 10)

ลำดับ	มวลมาตรฐาน (กิโลกรัม)	ค่าปรากฏ (kgf)		ค่าเฉลี่ยมวลปรากฏ
		Increasing	Decreasing	
1	1.1	1.1	1.1	1.1
2	11.1	11.0	11.0	11.0
3	21.1	20.9	20.9	20.9
4	31.1	30.8	30.8	30.8



ภาพผนวกที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างมวลมาตรฐานกับมวลปรากฏของกราฟที่มีช่วงระยะห่าง 10 (range 10)

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ-สกุล	นางสาวรัชฎาภรณ์ ไชยพิศ
เกิด	วันที่ 21 พฤศจิกายน พ.ศ. 2522
สถานที่เกิด	อำเภอเมือง จังหวัดนครนายก
ประวัติการศึกษา	ชั้นประถมศึกษาโรงเรียนเมืองร้อยเอ็ด (พ.ศ. 2537)
	ชั้นมัธยมศึกษาตอนต้นโรงเรียนสตรีศึกษา (พ.ศ. 2544)
	ชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายโรงเรียนสตรีศึกษา (พ.ศ. 2540)
	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ.ศ. 2544)
ประวัติการทำงาน	ตำแหน่ง สัตวบาลโรงฟัก บริษัท ซันฟู้ด จำกัด (พ.ศ. 2545-2547)