



วิทยานิพนธ์

ผลของดีแอล - เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอนุพันธ์ ต่อสมรรถภาพการผลิต
คุณภาพเปลือกไข่ และการสะสมแร่ธาตุในไข่ไก่

**Determining Effect of DL-Methionine Hydroxy Analogue on Production
Performance, Eggshell Quality and Mineral Accumulation in Laying Hens**

นางสาวณัฏฐา รัชดาภรณ์วานิช

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2551



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

ปริญญา

สัตวบาล

สัตวบาล

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง ผลของดีแอล - เมทไธโอนีนไฮดรอกซีแอนาล็อก ต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพเปลือกไข่ และการสะสมแร่ธาตุในไข่ไก่

Determining Effect of DL-Methionine Hydroxy Analogue on Production Performance, Eggshell Quality and Mineral Accumulation in Laying Hens

นางผู้วิจัย นางสาวณัฏฐา รัชดาภรณ์วานิช

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์, Ph.D.)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์จำเริญ เทียงธรรม, Ph.D.)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ศกร คุณวุฒิตุธิธิน, วท.ศ.)

กรรมการ

(รองศาสตราจารย์เปรมใจ ศรีสรานุวัฒนา, M.Stat)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์วินัย อางคงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 25 เดือน มีนาคม พ.ศ. 2551

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของดีแอล - เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอนุบาลอค ต่อสมรรถภาพการผลิต
คุณภาพเปลือกไข่ และการสะสมแร่ธาตุในไข่ไข่

Determining Effect of DL-Methionine Hydroxy Analogue on Production
Performance, Eggshell Quality and Mineral Accumulation in Laying Hens

โดย

นางสาวณัฏฐา รัชดาภรณ์วานิช

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)
พ.ศ. 2551

ญาณิสา รัชดาภรณ์วานิช 2551: ผลของดีแอล – เมทไธโอนีนไฮดรอกซีโอนาลอคต่อสมรรถภาพ
การผลิต คุณภาพเปลือกไข่ และการสะสมแร่ธาตุในไข่ขาว ปรินญาวิทยาสตรมหาบัณฑิต
(เกษตรศาสตร์) สาขาสัตวบาล ภาควิชาสัตวบาล ประชานกรรมการที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์
ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์, Ph.D. 105 หน้า

การทดลองครั้งนี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพ (bioefficacy) ของดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีโอนาลอค (LMA) เปรียบเทียบกับ ดีแอล-เมทไธโอนีน (DLM) ที่มีต่อสมรรถภาพการผลิตของไข่ การสะสมของแร่ธาตุในร่างกาย องค์ประกอบทางเคมีของไข่ และคุณภาพของเปลือกไข่ รวมทั้งการขับออกของแร่ธาตุในไข่ โดยใช้ไข่พันธุ์ซีพีบราวน์ ซึ่งมีอายุเริ่มทดลอง 34 สัปดาห์และน้ำหนักเฉลี่ย 1.85 ± 0.17 กก. จำนวน 480 ตัว เลี้ยงในโรงเรือนระบบปิดเป็นเวลา 84 วัน ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์โดยมี 5 กลุ่ม 6 บล็อก 1 หน่วยการทดลองประกอบด้วยไก่ 16 ตัว ทดสอบความแตกต่างทางสถิติระหว่างค่าเฉลี่ยโดยใช้ Tukey's studentized range test อาหารทดลองประกอบด้วย 1) กลุ่มไม่เสริมเมทไธโอนีน (อาหารพื้นฐาน) 2) อาหารพื้นฐานเสริม DLM 0.101 % 3) อาหารพื้นฐานเสริม LMA 0.115 % (เสริม LMA 1.14 เท่า (w/w) ของ DLM โดยกำหนดให้ 100 หน่วยของ LMA สามารถทดแทน DLM ได้ 88 หน่วย ซึ่งทำให้ได้ผลผลิตที่เหมือนกัน) 4) อาหารพื้นฐานเสริม LMA 0.123 % และ 5) อาหารพื้นฐานเสริม LMA 0.133 % จากผลการทดลองพบว่าไก่ที่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีน ทำให้สมรรถภาพการผลิตมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ไก่ไข่ที่กินอาหารเสริม LMA เมื่อพิจารณาจากสมรรถภาพการผลิตต้องใช้ที่ประสิทธิภาพ 82 % ของ DLM คุณภาพไข่เมื่อเสริมเมทไธโอนีนทำให้น้ำหนักไข่แดง ไข่ขาวมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริม ($p < 0.01$) การเสริมเมทไธโอนีนทำให้ค่าฮอกยูนิตน้อยลง ($p < 0.05$) แต่การเสริม LMA ทำให้ค่าฮอกยูนิตมีแนวโน้มสูงกว่าการเสริม DLM การเสริม LMA 0.123 % ทำให้มีปริมาณโปรตีนมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริม การเสริม LMA ทุกระดับทำให้เปอร์เซ็นต์ไขมันในไข่ขาวมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริม ($p < 0.01$) การเสริมเมทไธโอนีนทำให้ความกว้าง ความยาว พื้นที่ผิวไข่มากขึ้น ($p < 0.01$) การเสริมเมทไธโอนีนทำให้เปอร์เซ็นต์เปลือกไข่และความหนาเปลือกไข่ลดลง ในด้านการสะสมแร่ธาตุการเสริมเมทไธโอนีนทำให้ประสิทธิภาพการเปลี่ยนแคลเซียมให้เป็นแคลเซียมในเปลือก ($p < 0.01$) และประสิทธิภาพการเปลี่ยนฟอสฟอรัสให้เป็นฟอสฟอรัสในเปลือกสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่แคลเซียมและฟอสฟอรัสที่สะสมในร่างกายไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การเสริมเมทไธโอนีนทำให้น้ำหนักมูลและน้ำในมูลมากขึ้น ($p < 0.01$) ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารในระบบทางเดินอาหารส่วนใหญ่ไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มทดลอง การเสริม LMA 0.133 % ทำให้น้ำหนักตับต่อน้ำหนักตัวต่ำลง แต่น้ำหนักกรังไข่ น้ำหนักไขมันช่องท้องมีแนวโน้มมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริม การเสริม LMA 0.123 % ทำให้เปอร์เซ็นต์ไขมันในกระดูมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) การเสริม LMA ทำให้ฮอร์โมนเอสตราไดออลในเลือดมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)


ลายมือชื่อนิติสด


ลายมือชื่อประธานกรรมการ

19 / มิ.ค. / 2551

Yanisa Ratchadapornvanitch 2008: Determining Effect of DL-Methionine Hydroxy Analogue on Production Performance, Eggshell Quality and Mineral Accumulation in Laying Hens. Master of Science (Agriculture), Major Field: Animal Science, Department of Animal Science.

Thesis Advisor: Associate Professor Chaiyapoom Bunchasak, Ph.D. 105 pages.

This experiment was conducted to investigate the bioefficacy of DL-methionine hydroxy analogue (LMA) compared with DL-methionine (DLM) on production performance, mineral accumulation, chemical composition of egg, eggshell quality including mineral excretion in laying hens. Four hundred and eighty 34 weeks old CP-Brown (1.85 ± 0.17 kg) of laying hens were raised in closed housing system for 84 days. Randomized complete block design was used with five treatments and six replicates, one experimental unit consisted of 16 hens. Differences between means were tested for significance using Tukey's studentized range test. The experimental diets were 1) Methionine (Met) deficient corn – soybean based diet (basal diet), 2) basal diet supplemented with DLM 0.101 %, 3) basal diet supplemented with LMA 0.115 % (LMA 1.14 fold (w/w) of the amount of DLM, given an assumption that 100 units of LMA can be replaced by 88 units of DLM to come up with similar performance), 4) basal diet supplemented with LMA 0.123 % and 5) basal diet supplemented with LMA 0.133 %. The results revealed that production performance was significantly higher in Met supplemented groups as compared with unsupplemented group ($p < 0.01$). Bioefficacy of LMA was found to be 82 % of DLM related with production performance. In egg quality aspect, yolk weight and albumen weight of hens that received Met were higher than unsupplemented group ($p < 0.01$). Met supplementation significantly decreased haugh unit ($p < 0.05$), but LMA seems to improve haugh unit better than DLM supplementation. LMA 0.123 % had higher weight of protein in egg than unsupplemented group. All LMA supplemented groups had higher percent fat in egg than unsupplemented group ($p < 0.01$). Width, length and surface area of egg were increased due to Met supplementation ($p < 0.01$). Percentage of shell and shell thickness were significantly decreased when Met was added. Efficiency of calcium ($p < 0.01$) and phosphorus ($p < 0.05$) converse to shell were significantly increased in Met supplemented groups, but there was no significant effect of calcium and phosphorus retention in body ($p > 0.05$). Met supplementation significantly increased feces and water in feces ($p < 0.01$). Most of digesta pH did not differ among these treatments. LMA 0.133 % significantly decreased liver weight per body weight but have trend to increased ovary weight, abdominal fat weight, LMA 0.123 % increased percentage of fat in bone ($p < 0.05$) and all LMA increased blood estradiol compared with unsupplemented group ($p < 0.01$).



Student's signature



Thesis Advisor's signature

19 March 2008

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์ ประธานกรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จำเริญ เทียงธรรม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศกร คุณวุฒิฤทธิธรรม กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก รองศาสตราจารย์เปรมใจ ตริสราวุฒนา กรรมการที่ปรึกษาวิชารอง อาจารย์ชาญ เขตจัตุรัส ที่ได้สนับสนุนให้คำปรึกษาแนะนำอำนวยความสะดวก รวมทั้งแก้ไขการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้อย่างใกล้ชิด และรองศาสตราจารย์ ดร.อาภัสสรา ชูเทศะ ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์หน่วยงานต้นสังกัดที่อนุญาตให้ลาศึกษาต่อ ขอขอบคุณบริษัท Sumitomo Chemical Co., Ltd. (Japan) ที่สนับสนุนงบประมาณในการวิจัย ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร วิทยาเขตบางเขน ที่ให้คำปรึกษาและอำนวยความสะดวกในการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ และขอขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง สำหรับความอนุเคราะห์เครื่องมือและสถานที่ในการวิเคราะห์คุณภาพไข่

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และญาติพี่น้องที่ให้โอกาสในการศึกษา คอยให้กำลังใจในการดำเนินชีวิตมาโดยตลอด ตลอดจนคณาจารย์ทุกท่านที่ให้การอบรมสั่งสอนจนสำเร็จการศึกษา รวมทั้งขอขอบคุณ พี่ ๆ เพื่อน ๆ น้อง ๆ สัตวบาลทุกท่านที่ได้ให้การช่วยเหลือและให้คำปรึกษาในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ญาณิศา รัชดาภรณ์วานิช

กุมภาพันธ์ 2551

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	21
อุปกรณ์	21
วิธีการ	25
ผลและวิจารณ์	30
สรุปและข้อเสนอแนะ	73
สรุป	73
ข้อเสนอแนะ	74
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	75
ภาคผนวก	96

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ส่วนประกอบของวัตถุดิบอาหารพื้นฐานที่ใช้ในการทดลอง	22
2	ปริมาณการเสริมเมทไธโอนีนสังเคราะห์ในอาหารทดลอง	22
3	โภชนะจากอาหารพื้นฐานในการคำนวณและการวิเคราะห์ทางเคมี	23
4	ปริมาณกรดอะมิโนและสัดส่วนของกรดอะมิโนต่อไลซีนในอาหารทดลอง	24
5	ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อสมรรถภาพการผลิตในไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์	39
6	ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อคุณภาพของไข่ในไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์	42
7	ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อองค์ประกอบไข่ในไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์	44
8	ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อลักษณะรูปร่างของฟองไข่ในไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์	46
9	ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อลักษณะของเปลือกไข่ในไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์	50
10	ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อองค์ประกอบของเปลือกไข่ในไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์	52
11	ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อองค์ประกอบของกระดูก tibia ในไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์	54
12	ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อองค์ประกอบของมูลไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์	56
13	ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อการสะสมแร่ธาตุในร่างกายในไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์	58
14	ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อน้ำหนักอวัยวะภายในระบบทางเดินอาหารของไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์	60
15	ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อความยาวอวัยวะภายในระบบทางเดินอาหารในไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์	61

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
16	ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหาร ระบบ ทางเดินอาหาร และมูลของไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์	64
17	ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อท่อนำไข่ในไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์	66
18	ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อขนาดของท่อนำไข่ในไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์	67
19	ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อดัชนีฮอร์โมนเอสตราไดออลและการสะสม ไขมันในไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์	70
20	ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อไข่และค่าฮีมาโตคริตในไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์	72

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	โครงสร้างของเมทไธโอนีนและเมทไธโอนีนไฮดรอกซีอนาลอค	6
2	การเปลี่ยน D-isomer เป็น L-isomer	7
3	กระบวนการเมตาบอลิซึมของเมทไธโอนีน	8
4	การเปลี่ยนแอลฟาไฮดรอกซีเป็นอัลฟาคีโต และเปลี่ยนเป็นเมทไธโอนีน	10
5	เมตาบอลิซึมของวิตามินดีและการควบคุมความสมดุลของแคลเซียม	19
6	อุณหภูมิในช่วงการทดลอง	31
7	ความชื้นสัมพัทธ์ในช่วงการทดลอง	31
8	ผลของกรดอะมิโนไม่สมดุล	33
9	ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความแข็งแรงเปลือกไข่	49

ภาพผนวกที่

1	น้ำหนักตัวไก่เมื่อสิ้นสุดการทดลองโดยแสดงค่าเฉลี่ยแต่ละ Treatment ในแต่ละ Block	98
2	ปริมาณอาหารที่กินโดยแสดงค่าเฉลี่ยแต่ละ Treatment ในแต่ละ Block	98

ผลของดีแอล - เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอนุพันธ์ ต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพเปลือกไข่ และการสะสมแร่ธาตุในไข่

Determining Effect of DL-Methionine Hydroxy Analogue on Production Performance, Eggshell Quality and Mineral Accumulation in Laying Hens

คำนำ

การเลี้ยงไก่ในปัจจุบันมักใช้วัตถุดิบจากข้าวโพดและกากถั่วเหลืองเป็นหลักซึ่งมีกรดอะมิโนเมทไธโอนีนในปริมาณต่ำ และเป็นกรดอะมิโนจำกัอันดับแรก จึงต้องเสริมเมทไธโอนีนสังเคราะห์ ซึ่งปัจจุบันนิยมเติมในรูปแบบ DL-Methionine (DLM) และ DL-Methionine hydroxy analogue (LMA) สำหรับประสิทธิภาพของ LMA นั้นในทางทฤษฎีแล้ว LMA มีประสิทธิภาพ (bioefficacy) เท่ากับ 88 % ของ L-methionine (โดยน้ำหนัก/น้ำหนัก) แต่ในทางปฏิบัติมักคิดค่า bioefficacy ของ LMA เท่ากับ 75 % ของ L-methionine ประสิทธิภาพของการใช้ LMA ในไข่ยังไม่สามารถสรุปได้แน่ชัด เนื่องจากผลการทดลองในหลายงานวิจัยมีความแตกต่างกัน เช่น Bateman *et al.* (2005) ได้เปรียบเทียบผลของ LMA พบว่าประสิทธิภาพของ LMA ต่อการให้ผลผลิตไข่และมวลไข่มีค่าต่ำกว่า DLM ขณะที่ Liu *et al.* (2004) รายงานว่า LMA มีประสิทธิภาพเฉลี่ยคิดเป็น 88 % ของ DLM และ Van Weerden *et al.* (1984) พบว่าไก่ที่ได้รับการเสริม LMA ให้มวลไข่และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารต่ำกว่า DLM เมื่อให้ปริมาณที่เท่ากัน นอกจากนี้ยังมีรายงานที่พบว่าไม่มีความแตกต่างของแหล่งเมทไธโอนีนในไข่ (Reid *et al.*, 1982)

ในการผลิตไข่ คุณภาพเปลือกไข่นับเป็นปัจจัยที่สำคัญ ซึ่งตัวชี้วัดที่สามารถบ่งบอกคุณภาพเปลือกไข่มีหลายประการ ได้แก่ ค่าความถ่วงจำเพาะ รูปร่างฟองไข่ การเสีรูปทรงของฟองไข่ ความแข็งแรงของเปลือกไข่ น้ำหนักเปลือกไข่ ความหนาเปลือกไข่ มีปัจจัยมากมายที่มีอิทธิพลต่อคุณภาพเปลือกไข่ อาทิเช่น อายุ นับเป็นปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพเปลือกไข่ เพราะการสะสมแคลเซียมจะน้อยลงเมื่ออายุเพิ่มขึ้น และมีการเปลี่ยนแปลงในส่วนของ organic matrix อิทธิพลจากระดับฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen) พาราไธรอยด์ (parathyroid) เอนไซม์คาร์บอนิกแอนไฮเดรส (enzyme carbonic anhydrase) วิตามินดี 3 รวมทั้งสภาพแวดล้อม ปกติมักแก้ปัญหาโดยการเสริมแคลเซียมในอาหาร อย่างไรก็ตามการให้แคลเซียมในอาหารเพิ่มขึ้นไม่ทำให้เปลือกไข่มีคุณภาพดีขึ้นเสมอไป และมีรายงานว่า การให้แคลเซียมในระดับสูงมีผลทำให้ไข่ถูกทำลายได้

การเสริมเมทไธโอนีน ทำให้มีการสะสมแคลเซียมมากขึ้นเนื่องจากการใช้แคลเซียมต่ำลงและส่งผลต่อการสะสมแคลเซียมในกระดูก LMA มีคุณสมบัติเป็นกรดอินทรีย์ชนิดหนึ่ง ซึ่งทำให้การใช้ประโยชน์ได้ของอาหารมีประสิทธิภาพมากขึ้น นอกจากนี้มีรายงานว่าถ้าใส่มี pH ต่ำจะทำให้มีการดูดซึมแคลเซียมได้ดี กรดอินทรีย์ยังแสดงผลเหมือน chelating agents มีผลในการเพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุจากกระเพาะอาหารส่วนท้าย และมีงานวิจัยที่พบว่า D- และ L- LMA จะเปลี่ยนไปเป็น L-methionine ได้เร็วกว่า D-methionine เนื่องจากเอ็นไซม์ที่ทำปฏิกิริยากับ LMA มี affinity ที่สูงกว่า และจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นตามอายุที่มากขึ้น

วัตถุประสงค์

1. ศึกษา bioefficacy ของ ดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอนาลอค (LMA) เปรียบเทียบกับ ดีแอล-เมทไธโอนีน (DLM) ที่มีต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ในโรงเรือนระบบปิด
2. ศึกษาอิทธิพลของดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอนาลอค ต่อการสะสมของแร่ธาตุในร่างกาย องค์ประกอบทางเคมีของไข่ และคุณภาพของเปลือกไข่ รวมทั้งการขับออกของแร่ธาตุในไก่ไข่
3. ศึกษาอิทธิพลของดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอนาลอคต่อการสะสมไขมัน ในฟองไข่ กระดูก tibia และในร่างกายไก่ไข่

การตรวจเอกสาร

ความต้องการโปรตีนและกรดอะมิโนเมทไธโอนีนในไก่ไข่

Rook and Thomas (1983) รายงานว่าในไข่น้ำหนัก 60 กรัม มีเมทไธโอนีนเป็นองค์ประกอบอยู่ 237 มิลลิกรัม และมีความต้องการเมทไธโอนีน เพื่อสร้างไข่แดง ไข่ขาวและเปลือกไข่ในไข่ 1 ฟองเท่ากับ 38, 59 และ 3 มิลลิกรัมตามลำดับ และเมทไธโอนีนยังเป็นที่กรดอะมิโนตัวเริ่มต้นตัวแรกที่ใช้ในการสังเคราะห์โปรตีน

ปริมาณความต้องการโปรตีนและกรดอะมิโนเมทไธโอนีนที่ได้จากผลงานวิจัยหลายชิ้นมีค่าที่แตกต่างกัน เช่น NRC (1994) รายงานว่า ความต้องการโปรตีนและกรดอะมิโนเมทไธโอนีนในไก่ไข่สีน้ำตาลที่กินอาหารวันละ 110 กรัม มีค่าเท่ากับ 15 % และ 0.30 % ของอาหารตามลำดับ ส่วน Ishibashi and Yonemochi (2003) รายงานว่าแม่ไก่ที่ให้ไข่ 90 % ของไก่ทั้งหมด กินอาหาร 110 กรัม ต้องการโปรตีน 13.3 % ของอาหาร และมีกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ (sulfur amino acid) ได้แก่ เมทไธโอนีนและซิสเทอีน เป็น first limiting amino acid ขณะที่ Reid (1976) รายงานว่าการให้โปรตีนในอาหาร 15.5% ทำให้ผลผลิตไข่และน้ำหนักไข่ดีขึ้นกว่าเมื่อเทียบกับโปรตีน 10.0% , 11.5% และ 13.5% ในอาหาร และจากผลงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์หลายๆ งานพบว่า เมื่อกรดอะมิโนที่จำกัดลดลงต่ำกว่าความต้องการทำให้น้ำหนักไข่และอัตราการให้ผลผลิตไข่ลดลงอย่างเป็นสัดส่วน (NRC, 1994) ส่วน Hiramoto *et al.* (1990) พบว่า การขาดกรดอะมิโนเมทไธโอนีนในอาหารจะทำให้น้ำหนักตัว ปริมาณอาหารที่กินและอัตราการไข่ลดลง

ระดับกรดอะมิโนในอาหารมีผลต่อปริมาณการกินอาหาร ซึ่งเป็นปัจจัยหลักที่ทำให้การตอบสนองของกรดอะมิโนต่อผลผลิตไข่ดีขึ้น (Miller *et al.*, 1960) Fisher (1970) รายงานว่าไก่ไข่ในช่วงอายุ 30 – 40 สัปดาห์ เมื่อได้รับกรดอะมิโนเมทไธโอนีน 440 มิลลิกรัม/วัน ทำให้ไก่ไข่ให้ผลผลิตมากที่สุด ซึ่ง Schutte *et al.* (1983) รายงานว่าการได้รับกรดอะมิโนเมทไธโอนีน 425 มิลลิกรัม/ตัว/วัน เพียงพอต่อการให้ไข่ตลอดช่วง 52 สัปดาห์ และการสร้างมวลไข่ 51 กรัม/ตัว/วัน ทั้งนี้ Ingram *et al.* (1951) รายงานว่าการเสริมเมทไธโอนีน 0.16 % ในอาหารที่มีเมทไธโอนีนอยู่ 0.22 % ทำให้ผลผลิตไข่เพิ่มมากขึ้น สำหรับการเสริมเมทไธโอนีนลงในอาหารที่มีโปรตีนระดับต่ำนั้น Sell and Rogler (1984) รายงานว่าการใช้ระดับโปรตีนในอาหารไก่ไข่ 14 % และเสริมเมทไธโอนีนลงในอาหาร ทำให้ประสิทธิภาพการผลิตเทียบเท่ากับการใช้ระดับโปรตีนในอาหาร

16 % ในด้านคุณภาพเปลือกไข่ Wolford and Tanaka (1970) รายงานว่าการให้โปรตีน 15 – 21 % ในอาหารและกรดอะมิโนเมไทโอนีน หรือไลซีน รวมทั้งการให้เอสโตรเจน ไม่มีอิทธิพลต่อคุณภาพของเปลือกไข่ แต่ขึ้นอยู่กับเวลาที่ไข่อยู่ใน uterus ก่อนที่จะวางไข่

ไลซีนถูกกำหนดให้เป็นกรดอะมิโนที่ใช้ในการหา ideal protein (ARC , 1981) ในการคิดความต้องการกรดอะมิโนตัวอื่นจะคิดเป็นสัดส่วนกับไลซีน (Jianlin *et al.*, 2004) โดยมีการศึกษาสัดส่วนของกรดอะมิโนในอุดมคติของไก่ไข่ซึ่งใช้สัดส่วน (%) ของไลซีนเป็นฐานในการคำนวณพบว่าสัดส่วนของ Met และ Cys มีค่าเท่ากับ 85.9 % ของไลซีน (Cole and Van Lumen , 1994)

ดีแอล – เมไทโอนีน (DL-Methionine)

ปริมาณการบริโภคโปรตีนจากสัตว์ที่เพิ่มขึ้น ดังนั้นเพื่อให้การใช้วัตถุดิบอาหารสัตว์มีประสิทธิภาพจึงมีการใช้กรดอะมิโนเพิ่มมากขึ้นสำหรับการผลิตอาหารสัตว์ โดยพบว่ามีการใช้กรดอะมิโนเพิ่มขึ้น 5 % ทุกปีในประเทศที่พัฒนาแล้ว มีการผลิตเมไทโอนีน และเมไทโอนีนไฮดรอกซีอนาล็อก จำหน่ายในปริมาณ 450,000 ตันต่อปี (Ishibashi and Yonemochi, 2003) โดยการเสริมกรดอะมิโนเมไทโอนีนในอาหารสัตว์ นิยมใช้ในรูปแบบสังเคราะห์ ซึ่งมีอยู่หลายรูปแบบ ได้แก่ DL-methionine, DL-methionine-Na, DL-methionine hydroxyl analogue-Ca, DL-methionine hydroxyl analogue free acid (Van Weerder *et al.*, 1982)

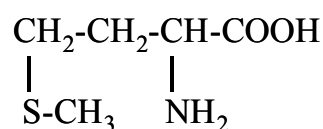
เมไทโอนีนจัดอยู่ในกลุ่มของกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ ซึ่งมีกรดอะมิโนซิสเทอีน และซิสตีนรวมในกลุ่มด้วย โดยซิสตีนประกอบด้วย ซิสเทอีน 2 โมเลกุลจับกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ (Disulfide bond) ในทางโภชนาศาสตร์เรียกรดอะมิโนกลุ่มนี้ว่า Total sulfur amino acid (TSAA) เมไทโอนีนมีความสำคัญต่อการสังเคราะห์โปรตีน โดยเป็นกรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acid, EAA) ซึ่งหมายถึง กรดอะมิโนที่ร่างกายสัตว์ชั้นสูงสร้างไม่ได้ หรือสร้างได้ไม่เพียงพอความต้องการของร่างกาย จำเป็นต้องได้รับจากอาหาร ถ้าขาดจะทำให้เกิดโรคได้ (บุญล้อม, 2541ข) ส่วนซิสตีนเป็นกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น เนื่องจากร่างกายสามารถสังเคราะห์เองได้หรือสังเคราะห์ได้จากเมไทโอนีน ในสัตว์ปีกนั้นเมไทโอนีน ถือเป็นกรดอะมิโนจำกัดอันดับแรก (first-limiting amino acid) เนื่องจากวัตถุดิบที่ประกอบสูตรอาหารมีปริมาณเมไทโอนีนที่ต่ำ

ลักษณะโครงสร้างทางเคมีของเมทไธโอนีน ประกอบด้วยหมู่คาร์บอกซิล (carboxyl group, -COOH) หมู่อะมิโน (amino group, -NH₂) อะตอมไฮโดรเจน (hydrogen atom, -H) และมีหมู่ R (side chain) ที่มีกำมะถันเป็นส่วนประกอบ จัดเป็น Non polar methyl thioester group ที่ทำให้กรดอะมิโนมีคุณสมบัติเป็น Hydrophobic amino acid โดยมีชื่อทางเคมีว่า (S)-2-amino-4-(methylsulfanyl) butyric acid มีสูตรเคมีคือ C₅H₁₁NO₂S น้ำหนักโมเลกุล 149.2 จุดหลอมเหลว 281 °C มีค่า pI เท่ากับ 5.74 ค่า pK₁ (α-COOH) เท่ากับ 2.13 และค่า pK₂ (α-NH₃⁺) เท่ากับ 9.28 (อภิสิทธิ์, 2543)

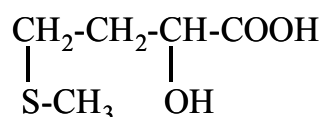
ดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอนาล็อก (DL-Methionine hydroxy analogue)

เมทาบอลิซึมในร่างกายนั้นมีปรากฏการณ์ที่เรียกว่า SAA sparing activity ซึ่งปัจจุบัน α hydroxy analogue ของเมทไธโอนีน นั้นเป็นผลิตภัณฑ์หลักชนิดหนึ่งที่ใช้ทดแทน DLM ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ (ชัยภูมิ, 2548) เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอนาล็อกมีสูตรทางเคมี คือ 2-hydroxy-4-methylthio butanoic acid แตกต่างจาก DLM ตรงที่ LMA มีหมู่ไฮดรอกซี (OH) ตรงคาร์บอนตำแหน่งอัลฟา ส่วน DLM มีหมู่อะมิโน (NH₂) ดังแสดงในภาพที่ 1

เมทไธโอนีน



เมทไธโอนีนไฮดรอก
ซีอนาล็อก



ภาพที่ 1 โครงสร้างของเมทไธโอนีนและเมทไธโอนีนไฮดรอกซีอนาล็อก

ที่มา: Patrick and Schaible (1980)

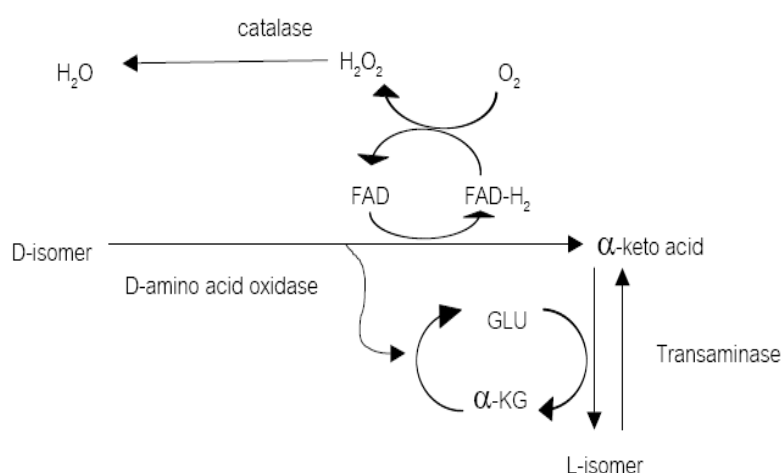
DLM และ LMA ถูกสังเคราะห์ด้วยขบวนการทางเคมีจากผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียม โดยมี D และ L-LMA ในอัตราส่วน 1:1 (Baker and Boebel, 1981) รวมทั้ง DLM และ LMA มี pH ที่แตกต่างกัน โดย DLM มี pH ระหว่าง 5.2-6.1 ส่วน LMA มี pH < 1

การใช้ประโยชน์ได้ของกรดอะมิโน

การใช้ประโยชน์ได้ของกรดอะมิโน หมายถึง กรดอะมิโนที่ถูกดูดซึมสามารถนำไปสังเคราะห์โปรตีนและสะสมในเนื้อเยื่อได้ (ชัยภูมิ, 2548) ซึ่งโอสถ (2535) รายงานว่าการวัดการใช้ประโยชน์ได้ของกรดอะมิโนมีหลายวิธี วิธีหนึ่งที่ใช้กันคือ การวัดโดยการทดสอบทางชีววิทยา (biological assays) โดยจะทำการวัดค่าจากสมรรถนะการเจริญเติบโตและผลผลิตสัตว์ที่ได้รับอาหารที่ขาดกรดอะมิโนที่ต้องการศึกษา และเสริมด้วยกรดอะมิโนสังเคราะห์ตัวที่ขาดในระดับต่างๆ

กระบวนการดูดซึมและเมทาบอลิซึมของเมทไธโอนีน

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



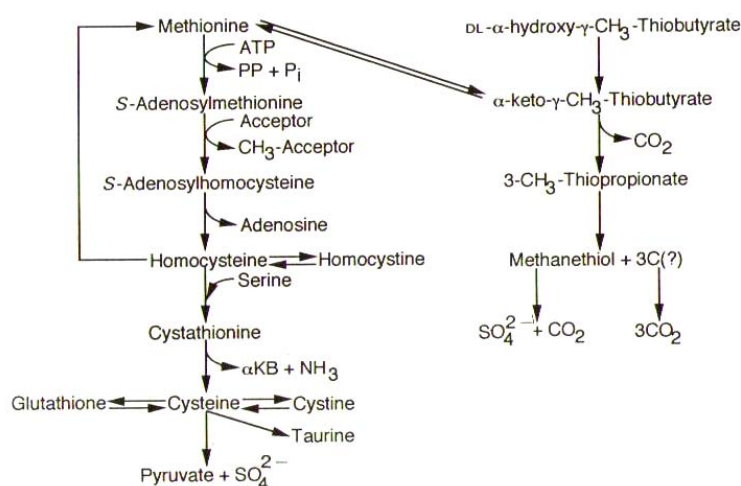
ภาพที่ 2 การเปลี่ยน D-isomer เป็น L-isomer

ที่มา: Baker (1994)

Baker (1994) รายงานว่า แม้ D-isomer จะสามารถเปลี่ยนเป็น L-isomer ได้ แต่ก็มีปัจจัยที่มาขัดขวางการใช้ประโยชน์ได้ของ D-isomer คือ 1. การดูดซึม D-isomer ผ่านระบบทางเดินอาหารมีประสิทธิภาพต่ำกว่า L-isomer 2. การเกิดออกซิเดชันของ D-isomer เป็น Keto analogues ไม่มี

ประสิทธิภาพ และ 3. การเกิด Transamination ของ Keto analogues เป็น L-isomer ไม่มีประสิทธิภาพ

กระบวนการเมตาบอลิซึมของกรดอะมิโนเมทไธโอนีนส่วนมากจะเกิดที่ตับ สัตว์ปีกสามารถสังเคราะห์ซิสเทอีนจากกรดอะมิโนเมทไธโอนีนได้ด้วยกระบวนการเมตาบอลิซึม แต่ไม่สามารถสังเคราะห์กรดอะมิโนเมทไธโอนีนจากซิสเทอีนได้ คือ จะไม่เกิดปฏิกิริยาย้อนกลับ (NRC, 1984) ในขบวนการเปลี่ยนกรดอะมิโนเมทไธโอนีนเป็นซิสเทอีนนั้น กรดอะมิโนเมทไธโอนีนจะทำปฏิกิริยากับ ATP ได้อนุพันธ์ของ S-adenosyl methionine (SAM) ซึ่งเป็นรูปที่สามารถให้หมู่เมธิลแก่สารอื่น (Finkelstein, 1990) และเปลี่ยนไปเป็นโฮโมซิสเทอีน ซึ่งสามารถรับหมู่เมธิลจาก N-methyl-tetrahydrofolate ($\text{CH}_3\text{-FH}_4$) กลับเป็นกรดอะมิโนเมทไธโอนีนอีก จึงจัดให้โฮโมซิสเทอีนเป็นสารตัวกลางที่สำคัญในเมตาบอลิซึมของกรดอะมิโนเมทไธโอนีน จากนั้นโฮโมซิสเทอีนจะถูกสังเคราะห์ต่อเป็นซิสเทอีน ดังในภาพที่ 3 ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่สำคัญในการผลิตขนไก่ (Card and Nesherm, 1972) ดังนั้น ความต้องการกรดอะมิโนเมทไธโอนีนในอาหารจึงต้องรวมความต้องการซิสเทอีนด้วย นอกจากนี้ซิสเทอีนยังเป็นสารตั้งต้นที่จะเปลี่ยนเป็นทอรีน ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของกรดน้ำดีและกลูตาไธโอน



ภาพที่ 3 กระบวนการเมตาบอลิซึมของเมทไธโอนีน

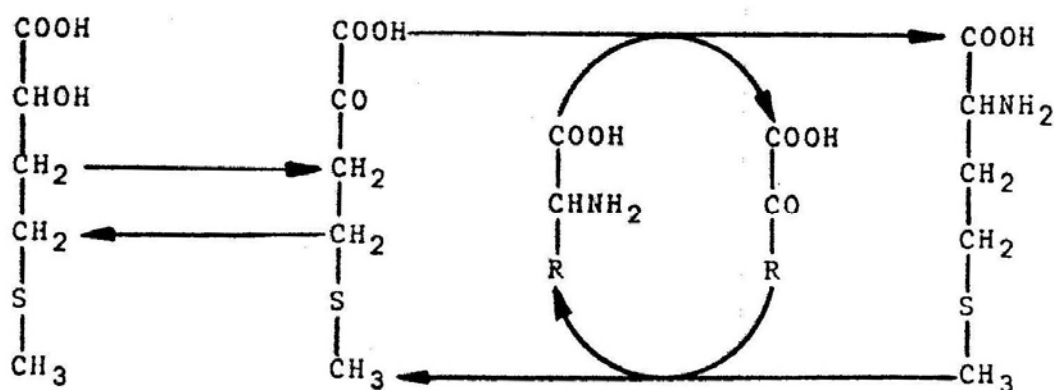
ที่มา: Baker (1994)

จากรายงานของ Baker and Czarnecki (1985) พบว่าอาหารที่มีปริมาณกรดอะมิโนเมทไธโอนีนเพียงพอ แต่ขาดกรดโฟลิก ไบโตามีนบี 6 และไบโตามีนบี 12 จะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนเมทไธโอนีนเป็นโฮโมซิสเตอีนเพิ่มมากขึ้น เป็นสาเหตุทำให้กรดอะมิโนเมทไธโอนีนไม่เพียงพอต่อการสังเคราะห์โปรตีน

กระบวนการดูดซึมและเมแทบอลิซึมของดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอนาลอก

การดูดซึม DLM และ LMA นั้นมีความแตกต่างกัน โดยสัตว์ปีกดูดซึม LMA แบบ passive transport ขณะที่ DLM ถูกดูดซึมแบบ active transport คือ ต้องอาศัยตัวกลางในการขนส่งและใช้พลังงาน (Knight and Dibner, 1984) และในสภาพอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมสูง ไก่กระທจะสามารถดูดซึม LMA ได้ดีกว่า DLM (Dibner *et al.*, 1992) ซึ่งจากรายงานของ Knight *et al.* (1994) พบว่าการเสริม LMA ในอาหารไก่กระທที่เลี้ยงในสภาพอากาศร้อน จะสามารถเพิ่มสมรรถภาพการเจริญเติบโตของไก่กระທได้ดีกว่าการเสริม DLM D, L- LMA และ D-met สามารถเปลี่ยนเป็น L-met ได้ในอวัยวะหลายๆ ชนิด โดยตับและไตเป็นอวัยวะหลักในการเปลี่ยนเป็น L-Met D, L LMA และ D-Met สะสมในรูป non protein ในไต ขณะที่ L-Met ไม่ถูกสะสม ซึ่งการสะสม D, L LMA และ D-Met ในไตทำให้มีการเปลี่ยนเป็น L-Met ได้ แต่เป็นการกระตุ้นการขับออกด้วย (Saunderson, 1985)

LMA มีกระบวนการเมแทบอลิซึมที่สามารถเปลี่ยนเป็น L-met โดยมีเอนไซม์ที่จำเป็นในปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LMA ให้เป็น α - keto analogue คือ dehydrogenase สำหรับเปลี่ยน D-LMA และ oxidase สำหรับเปลี่ยน L-LMA จากนั้น keto analogue จะเกิด transamination ไปเป็นแอลเมทไธโอนีน (Dibner and Knight, 1984) ดังในภาพที่ 4 ซึ่งในสัตว์ปีกนั้นกรดอะมิโนกลุ่ม Branched-chain (Valine, Isoleucine และ Leucine) จะเป็นตัวให้หมู่อะมิโนแก่ keto analogue (Gordon and Sizer, 1965)



ภาพที่ 4 การเปลี่ยนแอลฟาไฮดรอกซีเป็นอัลฟาคีโต และเปลี่ยนเป็นเมทไธโอนีน
ที่มา: Gordon and Sizer (1965)

นอกจากนี้ Dibner and Buttin (2002) ยังรายงานว่า LMA มีคุณสมบัติเป็นกรดอินทรีย์ซึ่งเป็นกรดอ่อน (มีการแตกตัวได้น้อยกว่า 100%) กรดอินทรีย์เมื่อเสริมในอาหารจะช่วยปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของกระเพาะลดลงให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ในกระเพาะอาหาร โดยบุญล้อม (2541ข) รายงานว่าหากลำไส้มี pH ต่ำ จะทำให้มีการดูดซึมแคลเซียมได้ดี กรดอินทรีย์ยังแสดงผลเหมือน chelating agents มีผลในการเพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุจากกระเพาะอาหารส่วนท้าย (Ravindran and Kornegay, 1993)

เปรียบเทียบผลของเมทไธโอนีนและดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอะนาลอก

การศึกษาถึงผลของ เมทไธโอนีน จาก 2 แหล่งนี้ ได้ผลแตกต่างกันและมีการศึกษาในสัตว์หลายชนิดพบว่าเมทไธโอนีนไฮดรอกซีอะนาลอก มี bioefficacy ต่อสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพซากในช่วง 65-90 % ของดีแอล-เมทไธโอนีน (Harms and Russell, 1994; Hoehler and Hooge, 2003) โดย Rostagno and Barbosa (1995); Van Weerden and Schutte (1983) รายงานว่าเมทไธโอนีนไฮดรอกซีอะนาลอกมีค่า bioefficacy เมื่อเปรียบเทียบกับดีแอล-เมทไธโอนีน ประมาณ 72-83 % และ 67-73 % เพื่อการเพิ่มน้ำหนักตัว และประสิทธิภาพการใช้อาหารในไก่กระตองตามลำดับ ส่วนงานวิจัยที่พบว่าให้ผลไม่แตกต่างกันเช่นงานทดลองของ Römer and Abel (1999) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของ LMA เทียบกับ DLM ในไก่กระตองและสุกรต่อการสะสมไนโตรเจน พบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างแหล่งของเมทไธโอนีน Romoser *et al.* (1976) และ Waldroup *et al.* (1981) พบว่าเมื่อใช้ LMA, DL หรือ L methionine ไม่มีความแตกต่างของ

สมรรถภาพการผลิตในไก่ สำหรับในไก่ไข่นั้น Bateman *et al.* (2005) ได้เปรียบเทียบผลของ LMA และ DLM พบว่า bioefficacy ของ LMA เทียบกับ DLM มีค่า 87 % เมื่อคิดจากมวลไข่ มีค่า 80 % เมื่อคิดจากผลผลิตไข่ และมีค่าเป็น 117 % เมื่อคิดจากน้ำหนักไข่

เปลือกไข่

วิโรจน์ (2537) รายงานว่าเปลือกไข่มี 2 ชั้น ได้แก่

ชั้นที่ 1 True shell หรือ calcified shell ซึ่งประกอบไปด้วย mamillary และ palisade หรือ spongy layer ในชั้นนี้ส่วนมากจะประกอบไปด้วยแคลเซียมคาร์บอเนต ส่วนเนื้อที่เหลือของ true shell จะมีสารอินทรีย์เป็นเนื้อซึมซาบอยู่ทั่วไป ส่วนเนื้อของเปลือกไข่ (organic matrix) ที่เป็นสารอินทรีย์จะรวมตัวกันอยู่ในลักษณะที่ประสานกันอยู่เป็นตาข่าย organic matrix จะเป็นตัวกำหนดที่สำคัญในการทำให้เกิดการสะสมแคลเซียมในเปลือกไข่ โดยที่ส่วน organic mamillary cores จะเป็นตำแหน่งที่มีแคลเซียมมาเกาะ Hunton (2005) รายงานว่ามีโปรตีนหลายชนิดที่เป็นส่วนประกอบที่สำคัญใน organic matrix

ชั้นที่ 2 Proteinaceous cuticle เป็นพวกอินทรีย์สาร มีโปรตีน 90 เปอร์เซนต์ คาร์โบไฮเดรต และไขมันเล็กน้อย โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบได้แก่ ไกลซีน กรดกลูตามิก ไลซีน ซิสทีน และไทโรซีน ส่วนที่เป็นคาร์โบไฮเดรตได้แก่ เฮกโซซามีน กาแลคโตส แมนโนส ฟรุคโตส กลูโคสและกรดเซียลิก ส่วนที่เป็นไขมันได้แก่ neutral lipid และ polar lipid ในอัตราส่วน 6:1 สำหรับไขมันในไข่แดงมีอัตราส่วน 2:1

ไข่ที่ได้จากการผลิตในฟาร์มจะมีไข่จำนวนหนึ่งที่แตกร้า ซึ่ง Boushy (1966) รายงานว่ามีไข่ที่แตกร้า 4.4 % ต่อปี และ Bain (2005) รายงานว่ามีไข่ที่แตกเสียหายมากถึง 10 % โดยที่เปลือกไข่คุณภาพต่ำเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจคิดเป็นมูลค่า 478 ล้านดอลลาร์ต่อปีในสหรัฐ (Roland, 1988) ถ้ามองถึงในด้านการผลิตไข่ฟัก วรวิทย์ (2531) รายงานว่า ไข่ที่เปลือกคุณภาพต่ำเช่นเปลือกมีรูพรุนมากเกินไป เปลือกไข่บางไม่แข็งแรง จะมีการฟักออกเป็นตัวต่ำกว่าไข่ที่มีเปลือกหนาและแข็งแรง เนื่องจากการสูญเสียน้ำออกจากฟองไข่มากกว่าปกติ โดยที่ Boushy (1966) รายงานว่ามีค่าที่ใช้วัดเพื่อประเมินคุณภาพไข่ได้แก่

1. ค่าความถ่วงจำเพาะ (specific gravity) ค่าความถ่วงจำเพาะหาได้จาก น้ำหนักไข่/ปริมาตรไข่ ซึ่งค่าปริมาตรไข่ (v) มีผู้เสนอวิธีคำนวณไว้ อาทิเช่น Romanoff and Romanoff (1949) เสนอสมการ $v = 0.519 LB^2$ โดยมีความคลาดเคลื่อนเท่ากับ 1.1 % โดยที่ L = ความยาว และ B = ความกว้าง Boushy (1966) ได้แสดงข้อมูลว่า ค่าความถ่วงจำเพาะจะมีค่ามากขึ้น เมื่อความหนาเปลือกไข่มากขึ้นในไข่ไก่วง ค่าความถ่วงจำเพาะมีสหสัมพันธ์กับความหนาและความแข็งแรง

2. ดัชนีรูปร่างฟองไข่ (shape index) ได้จาก (ความกว้าง/ความยาว) x 100 โดย Sturkie (1965) รายงานว่าไข่ที่มีค่าดัชนีรูปร่างฟองไข่สูงจะมีรูปทรงสั้นกลมรี ส่วนไข่ที่มีค่าดัชนีรูปร่างฟองไข่ต่ำจะมีรูปร่างยาว

3. การเสียรูปทรงของฟองไข่ (deformation) เป็นการวัดความแข็งแรงของเปลือกไข่โดยไม่ทำให้เปลือกแตกซึ่งจะใช้แรงที่ 0.5 หรือ 1.0 กิโลกรัม โดยที่ Solomon (1991) รายงานว่าไข่ที่มีรูปร่างกลมจะเสียรูปทรงได้ยากกว่าไข่ที่มีรูปร่างยาว

4. ความแข็งแรงของเปลือกไข่ (breaking strength) Solomon (1991) รายงานว่าความแข็งแรงของเปลือกไข่ในความหมายทางวิศวกรรมหมายถึงคุณสมบัติในการยืดหยุ่น ความสามารถในการรองรับแรงกดและแรงดึง และ Romanoff and Romanoff (1949) รายงานว่าความแข็งแรงของเปลือกไข่วัดจากแรงที่ทำให้ไข่แตกโดยใช้แรงเพิ่มขึ้นทีละน้อยจนกระทั่งเปลือกแตก ซึ่งความแข็งแรงของไข่ฟักจะทำหน้าที่ในการป้องกันตัวอ่อนจากแม่ไก่และจากการถูกทำลาย

5. น้ำหนักเปลือกไข่ (shell weight) Romanoff and Romanoff (1949) รายงานว่าน้ำหนักเปลือกจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อน้ำหนักไข่มากขึ้น แต่เมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์จะมีค่าคงที่ และ Boushy (1966) พบว่าน้ำหนักเปลือกและสัดส่วนน้ำหนักเปลือกคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ จะมีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิสิ่งแวดล้อมเพิ่มขึ้น

6. ความหนาเปลือกไข่ (shell thickness) Romanoff and Romanoff (1949) รายงานว่าความหนาของเปลือกไข่และความแข็งแรงของเปลือกไข่มีสหสัมพันธ์ต่อกันค่อนข้างสูงโดยมีค่าเท่ากับ 0.835 ± 0.011 แต่ Bain (2005) รายงานว่าไข่ที่มีเปลือกหนาอาจจะไม่ใช่ไข่ที่มีเปลือกแข็งแรง ในบางครั้งไข่ที่มีเปลือกบางก็แข็งแรงกว่าไข่ที่มีเปลือกหนา

นอกจากนี้ Hunton (2005) ได้รายงานว่ามีการใช้วิธี Beta-particle backscatter, ultrasound wave reflection รวมทั้งการศึกษา microstructure ของเปลือกไข่ โดยเน้นที่ protein matrix ในการวัดคุณภาพเปลือกไข่ ส่วนปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพเปลือกไข่มีหลายประการซึ่งจะรายงานถึงเพียงบางปัจจัยดังต่อไปนี้

1. อายุของไก่ มีการศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อความแข็งแรงของเปลือกไข่ ซึ่งพบว่าอายุของไก่เป็นปัจจัยสำคัญ โดยมีการศึกษาในไก่อายุ 13-15 เดือน พบว่าจะมีการสะสมแคลเซียม 1.5-1.7 กรัม/ตัว/วัน ในขณะที่ไก่อายุน้อยจะมีการสะสมแคลเซียมมากกว่า 2 กรัม/วัน โดยที่ปริมาณแคลเซียมที่เหมาะสมต่อวันประมาณ 4 กรัม/วัน (Peterson, 1965) เมื่ออายุเพิ่มขึ้นไก่จะให้ไข่ที่มีเปลือกบาง เนื่องจากมีปริมาณ calcium binding protein น้อยลง (Bar *et al.*, 1992) นอกจากนี้ Bain (2005) รายงานว่าในไก่ที่มีอายุมากขึ้นจะมีการเปลี่ยนแปลงในส่วน of organic matrix

2. แคลเซียม (Ca)

- 2.1 การดูดซึมแคลเซียม แคลเซียมสามารถถูกดูดซึมได้ ทั้งวิธี active transport และ passive diffusion เมื่อแคลเซียมในอาหารต่ำ จะดูดซึมโดยวิธี active transport การดูดซึมแบบ active transport ต้องอาศัยโปรตีนเป็นตัวพาซึ่งเกี่ยวข้องกับวิตามินดี (vitamin D dependent protein carrier) เกิดใน duodenum และ jejunum ส่วนบน เนื่องจากลำไส้เล็กส่วนต้นมี pH ที่ต่ำ ทำให้แคลเซียมถูกดูดซึมเพราะแคลเซียมจะละลายเมื่ออยู่ในสภาพที่เป็นกรดจึงถูกดูดซึมใน duodenum ได้ดี (Guthrie, 1975) และแบบ passive diffusion ซึ่งจะเกิดตลอดทั้งลำไส้เล็กแต่ส่วนใหญ่แล้วจะเกิดที่ ileum และในลำไส้ใหญ่เล็กน้อย (Gueguen and Pointillart, 2000) อย่างไรก็ตามจากการทดลองของ Karbach and Feldmeier (1993) กลับพบว่า cecum และ colon สามารถดูดซึมแคลเซียมได้ในปริมาณมาก นอกจากนี้ขนาดของชินัตลูบมีผลต่อการดูดซึมแคลเซียมโดย Scott *et al.* (1971) ได้แสดงว่าแคลเซียมคาร์บอเนตในรูปของเปลือกหอยมีประสิทธิภาพมากกว่าหินปูน เนื่องจากเปลือกหอยมีขนาดใหญ่ใช้เวลาย่อยนาน และถูกดูดซึมในกระแสเลือดได้มากกว่าหินปูน ทำให้การใช้เปลือกหอยดีกว่าการใช้หินปูน

เมื่อแร่ธาตุถูกดูดซึมเข้ามาภายในเซลล์ดูดซึม พบว่าจะมีการจับกับสารภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์ดูดซึม (ligands) สารดังกล่าวเป็นตัวควบคุมการดูดซึมแร่ธาตุเข้าสู่เซลล์ดูดซึมและส่งผ่านแร่ธาตุเข้าสู่กระแสโลหิต ซึ่งแคลเซียมจะต้องอยู่ในรูปที่ละลายได้ โดยจะอยู่ในรูป ionized (Ca^{2+}) หรือไปรวมกับ organic molecule ที่ละลายได้ แคลเซียมที่ถูกดูดซึมเข้ามาใน

ไซโตพลาสซึมจะจับกับแคลบินดินได้เป็นสารประกอบ Ca-calbindin เพื่อป้องกันมิให้ Ca^{2+} ไปจับกับอะตอมที่มีประจุลบ ภายในไซโตพลาสซึมแล้วกลายเป็นสารประกอบที่ไม่ละลายน้ำ ทำให้การดูดซึม Ca^{2+} เสียไป (ชัยวัฒน์, 2541)

2.2 การใช้ประโยชน์ได้ของแคลเซียม (Bioavailability of calcium) หมายถึง แคลเซียมที่ถูกดูดซึมในทางเดินอาหาร และสะสมเก็บไว้ หรือนำไปใช้ในกระบวนการต่าง ๆ ของร่างกาย โดยเฉพาะกระบวนการใช้แร่ธาตุในกระดูก (Ammerman, 1995; Gueguen and Pointillart, 2000) ส่วน Gordon (1995) cited O'Dell (1984) ได้เสนอว่า การใช้ประโยชน์ได้ของแคลเซียม หมายถึง อัตราส่วนของปริมาณแร่ธาตุที่ถูกดูดซึมและใช้ประโยชน์ได้เปรียบเทียบกับปริมาณทั้งหมดที่ย่อยได้ นอกจากนี้ Underwood and Suttle (1999) รายงานว่า การประเมินคุณค่าของอาหารที่เป็นแหล่งแคลเซียมนั้นไม่เพียงแต่ขึ้นกับปริมาณแร่ธาตุในอาหารแล้ว ยังขึ้นกับความสามารถในการดูดซึมในทางเดินอาหารของสัตว์ รวมทั้งการนำไปใช้โดยเซลล์และเนื้อเยื่อของสัตว์ ซึ่งขึ้นอยู่กัยอายุ ชนิดของสัตว์ การกินได้ของแร่ธาตุตามความต้องการ รูปแบบทางเคมีของแร่ธาตุที่ถูกย่อย ปริมาณและสัดส่วนของสารอาหารชนิดอื่นที่จะมาทำปฏิกิริยากับ Ca^{2+} โดย Ca^{2+} สามารถรวมกับอะตอมที่มีประจุลบแล้วทำให้การดูดซึมเสียไป ดังนั้นการทำให้แคลเซียมอยู่ในรูปของ chelate น่าจะช่วยให้การดูดซึมดีขึ้น

2.3 Chelate หมายถึงสารประกอบที่มีการเกาะร่วมกันระหว่าง cation กับ ligand เกิดการสร้างพันธะเคมีขึ้นเป็นพันธะ coordinate covalent (Scott *et al.*, 1982) โดยที่ ligand เป็นโมเลกุลที่ประกอบด้วยอะตอมซึ่งมี lone pair electron cation จะจับกับ donor atom ของ ligand ดังเช่น oxygen atom ใน carboxyl group (Acda and Chae, 2002) สำหรับการดูดซึมสาร chelate นั้น McDowell (1992) รายงานว่า chelate สามารถลำเลียงแร่ธาตุไปได้ทั่วร่างกาย แต่ในกรณีที่ ligands ที่มาสร้างพันธะกับแร่ธาตุไม่มีประสิทธิภาพที่ดีพอในการดูดซึมก็จะทำให้มีการขับออก ในทางทฤษฎีนั้น chelate จะเพิ่มการดูดซึม และการใช้ประโยชน์ได้ของแร่ธาตุ เพราะมีความเสถียรมากกว่า ในการศึกษาถึงประโยชน์ของ chelate พบว่า ส่วนใหญ่แร่ธาตุในรูป chelate จะมีการตอบสนองที่ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับแหล่งแร่ธาตุจาก inorganic source

สำหรับเมทาไธโอนีน ที่มีผลต่อระดับของแคลเซียม นั้น Peterson (1965) รายงานว่ากรดอะมิโนบางตัว ทำหน้าที่สำคัญในการป้องกันการลดลงของระดับแคลเซียมในเลือด โดยเฉพาะ เมทาไธโอนีน ทำให้อัตราการใช้แคลเซียมช้าลงและมีการสะสมแคลเซียมมากขึ้น ซึ่งมีผลอย่างมากต่อการขนส่งแคลเซียมไปสะสมในกระดูก แคลเซียมที่จับกับกรดอะมิโนช่วยในการ

นำแคลเซียมไปสู่เลือด ปริมาณของโปรตีนที่มีคุณภาพสูงซึ่งประกอบไปด้วยกรดอะมิโนที่เพียงพอจะมีอิทธิพลต่อคุณภาพเปลือกไข่ต่างๆ กับขนาดและจำนวนไข่

เมทไธโอนีน มีคุณสมบัติในการเป็น chelate โดยสามารถให้อิเล็กตรอนได้ 3 ตำแหน่ง คือ COO^- NH_2 และ thioether group ซึ่งสามารถสับเปลี่ยนตำแหน่งในการทำปฏิกิริยาได้ขึ้นอยู่กับ cation (IUPAC, 1995) ส่วนการทำปฏิกิริยาระหว่าง LMA และ cation เป็นสารประกอบเชิงซ้อนจะใช้ LMA: M ในอัตรา 2:1 โมเลกุล ($\text{M} = \text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}, \text{Mn}^{2+}, \text{Co}^{2+}, \text{Cu}^{2+}$ และ Zn^{2+}) โดยมีออกซิเจนอะตอมของ carboxylic และ hydroxylic group จาก LMA 2 โมเลกุลที่จะให้โปรตอน แก่ cation มีสูตร คือ $[\{\text{CH}_3\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{COO}\}_2\text{M}] 2\text{H}_2\text{O}$ (Predieri *et al.*, 2003; Predieri *et al.*, 2005)

2.4 การสะสมแคลเซียมในเปลือกไข่ Sturkie (1965) รายงานว่าอัตราการสะสมแคลเซียมคาร์บอเนตในเปลือกไข่นั้นจะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ หลังจากไข่เคลื่อนที่เข้ามาอยู่ใน uterus ภายใน 4 ชั่วโมง หลังจากนั้นอีก 16 ชั่วโมงจะมีอัตราการสะสมแคลเซียมเพิ่มขึ้นสูงกว่าช่วงแรกมาก สอดคล้องกับวิโรจน์ (2537) ที่รายงานว่าในระหว่าง 15 ชั่วโมงสุดท้ายของการสร้างเปลือกธาตุแคลเซียมจะผ่านออกจาก uterus ของแม่ไก่ในอัตรา 100-500 มิลลิกรัม/ชั่วโมง ซึ่งกลไกการผ่านออกมาของธาตุแคลเซียมนี้จะเกิดขึ้นได้ต้องอาศัยกลไกที่ต้องการพลังงาน (active transport) ซึ่งโปรตีนที่มีธาตุแคลเซียมเกาะอยู่จะเป็นตัวทำให้เกิดกลไกดังกล่าว สำหรับความเข้มข้นของแคลเซียมในเลือดนั้น Hunton (2005) รายงานว่าในไก่หนัก 1.5 กิโลกรัม จะมีเลือด 75 มิลลิลิตร ซึ่งจะมีค่าความเข้มข้นของแคลเซียมสูงสุดเท่ากับ 30 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร ดังนั้นปริมาณแคลเซียมสูงสุดจะมีค่าเท่ากับ 25 มิลลิกรัม ในฟองไข่หนัก 60 กรัม มีแคลเซียมในเปลือกอยู่ 2.3 กรัม ดังนั้นจะต้องมี calcium turnover เพื่อผลิตเปลือกไข่ประมาณ 100 เท่าของแคลเซียมในเลือด

การสร้างเปลือกไข่มักเกิดขึ้นในช่วงเวลากลางคืนซึ่งเป็นเวลาที่ระดับแคลเซียมในทางเดินอาหารเริ่มลดลงเรื่อยๆ ดังนั้นแหล่งของธาตุแคลเซียมในการสร้างเปลือกไข่ในเวลาเช้ามืดนั้นจึงได้มาจากกระดูก ใน uterus นั้นมีแคลเซียมเพียงเล็กน้อย ดังนั้นแคลเซียมที่ใช้ในการสร้างเปลือกจึงมาจากเลือดซึ่งได้มาจากอาหารและกระดูก ซึ่ง 60-75 % ของแคลเซียมมาจากอาหาร ส่วนแคลเซียมที่มาจากกระดูกจะอยู่ในรูปของ non diffusible calcium หรือ protein bound form มีอยู่ 72 % ส่วนอีก 36 % อยู่ในรูปของ diffusible form (ionic form หรือ ultrafilterable) ซึ่งแคลเซียมที่จะนำไปใช้สร้างเปลือกไข่ต้องอยู่ในรูป ionic form (Peterson, 1965) สอดคล้องกับ

Ahmad and Balander (2004) ที่รายงานว่าช่วงเวลาที่ขาดแคลเซียมในทางเดินอาหารมากที่สุด คือ 24.00 – 04.00 น.

Sturkie (1965) รายงานว่าถ้าการดูดซึมแคลเซียมในทางเดินอาหารเกิดขึ้นในอัตราคงที่ จะมีการดูดซึมแคลเซียมในอัตรา 85 มิลลิกรัม/ชั่วโมง ซึ่งอัตราการนำแคลเซียมมาจากเลือดเท่ากับ 100-150 มิลลิกรัม/ชั่วโมง ดังนั้นอัตราการนำแคลเซียมมาจากกระดูกจึงเท่ากับ 15-65 มิลลิกรัม/ชั่วโมง ในไก่ไข่ระยะให้ไข่จะมีแคลเซียมในเลือดสูงกว่า 2-3 เท่า เมื่อเทียบกับไก่ตัวผู้ และไก่ตัวเมียที่ยังไม่ให้ไข่ ซึ่งระดับของแคลเซียมนี้ถูกควบคุมโดยฮอร์โมนเอสโตรเจน แคลเซียมในเปลือกไข่นี้มาจากแคลเซียมคาร์บอเนต ซึ่งได้มาจากแคลเซียมและคาร์บอเนตไอออน แหล่งของคาร์บอเนตไอออนมาจากไบคาร์บอเนตไอออน (HCO_3^-) ในเลือดซึ่งเกิดจากแกสคาร์บอนไดออกไซด์ละลายในน้ำที่มี enzyme carbonic anhydrase ซึ่งเอนไซม์นี้มีอยู่มากในไก่ที่ไข่ไข่ดก (Sturkie, 1965) เมื่อสมดุลของกรดเบสเปลี่ยนไปและ pH ในเลือดเพิ่มขึ้นทำให้เซลล์ duodenum มีความสามารถในการขนส่งแคลเซียมน้อยลงซึ่งเกิดในสภาพอากาศร้อน (Mahmoud *et al.*, 1996)

Zollitsch *et al.* (n.d.) รายงานว่าไก่อายุ 36-42 สัปดาห์ต้องการแคลเซียมระหว่าง 3.0 และ 3.5 กรัม/ตัว/วัน ขึ้นอยู่กับคุณภาพเปลือกไข่ โดยที่ Hurwitz and Griminger (2006) พบว่าระดับของแคลเซียมที่เหมาะสมต่อความหนาของเปลือกไข่ คือ 3 กรัม/ตัว/วัน ส่วนการให้แคลเซียมที่เพิ่มขึ้นต่อความแข็งแรงของเปลือกไข่นั้น Jackson *et al.* (1987) รายงานว่าการให้แคลเซียมเพิ่มจาก 3 % เป็น 4.5 % ทำให้ความแข็งแรงเปลือกไข่เพิ่มขึ้น แต่การเพิ่มแคลเซียมถึง 7.5 % ไม่ทำให้เปลือกไข่แข็งแรงขึ้นจากการใช้แคลเซียม 4.5 % (3,340-3,342 g) ซึ่งการเพิ่มแคลเซียมจาก 3-7.5 % ไม่ทำให้ผลผลิตไข่ลดลงในช่วงอายุไก่ตั้งแต่ 42-62 สัปดาห์

Zollitsch *et al.* (n.d.) รายงานว่าในไก่ไข่อายุ 36 สัปดาห์ การให้อาหาร 85 กรัม/ตัว/วัน และให้กินแคลเซียมแตกต่างกัน 6 ระดับ คือ 2, 2.5, 3, 3.5, 4 และ 4.5 กรัม/ตัว/วันเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าเปอร์เซ็นต์เถ้าในกระดูกของกระดูกที่ไม่มีไขมัน สำหรับกระดูกทั้งหมด กระดูกคอร์ติซอล และกระดูกเมดูลลารีของกระดูกฟิเมอร์ไม่แตกต่างกันและไม่มีความสัมพันธ์กับแรงที่ทำให้กระดูกแตกหัก ความต้องการแคลเซียมควรคิดจากความเข้มข้นของเถ้าในกระดูก เพราะจะทำให้มีแร่ธาตุสะสมในกระดูกมากขึ้นเพื่อรักษาคุณภาพเปลือกไข่ที่ดีโดยจะต้องให้แคลเซียมมากกว่า 4.5 กรัม/ตัว/วัน นอกจากนี้คณะนักวิจัยยังพบว่าการให้แคลเซียม และหินปูนที่ละลายได้ในปริมาณที่เหมาะสมกับไก่อายุน้อยจนกระทั่งตลอดการให้ไข่ จะช่วยทำให้กระดูกและ

เปลือกไข่แข็งแรงในระยะท้ายๆ ของการไข่ ในไก่อายุ 36 สัปดาห์ควรได้รับหินปูนที่มีการละลายได้ (8-10 %) และได้กินแคลเซียมในปริมาณสูง (5 กรัม/ตัว/วัน ถ้าคิดจากคุณภาพเปลือกที่ดี และ 6 กรัม/ตัว/วัน ถ้าคิดจากการรักษากระดูกให้แข็งแรง) ส่วนในไก่อายุ 77-94 สัปดาห์การกินแคลเซียม 3.94 - 4.89 และ 5.89 กรัม/ตัว/วัน ทำให้มีคุณภาพเปลือกและความแข็งแรงกระดูกตามลำดับดีที่สุด

3. ฟอสฟอรัส (P) เป็นแร่ธาตุที่มีความสำคัญในไก่ไข่ เนื่องจากมีบทบาทต่อการสร้างเปลือกไข่และเมตาบอลิซึมของเปลือกไข่ (Summers, 1995; Roland, 1986) Summers (1995) รายงานว่า ไม่พบความแตกต่างของคุณภาพเปลือกไข่หรือน้ำหนักไข่ของไก่ที่ได้รับฟอสฟอรัสใช้ประโยชน์ได้ 0.2 % หรือ 0.4 % เปลือกไข่ประกอบด้วยฟอสฟอรัสเพียงเล็กน้อย อัตราส่วนของ Ca: P ประมาณ 100: 1 (Ahmad and Balander, 2004) Hurwitz and Griminger (2006) รายงานว่าความต้องการฟอสฟอรัสมีค่าระหว่าง 0.24 – 0.36 กรัม/ตัว/วัน และยังพบความสัมพันธ์ระหว่างการกินได้ของ P และการขับออกเป็นแบบเส้นตรง

การขาดแคลเซียมและฟอสฟอรัสในกระดูกเป็นเวลานานทำให้เกิดภาวะกระดูกพรุนและเพิ่มอัตราการตาย (Rao *et al.*, 1995) รวมทั้งระดับของฟอสฟอรัสในอาหารที่ต่ำ ทำให้เพิ่มการขับแคลเซียมทางปัสสาวะมากขึ้น 3 – 5 เท่า ซึ่งทำให้ไตถูกทำลายมากขึ้น (Rao and Roland, 1992a) Rao and Roland (1992b) ได้เปรียบเทียบการให้อาหารที่มีฟอสฟอรัสระดับต่ำ คือมีฟอสฟอรัส 0.4 % กับอาหารที่มีฟอสฟอรัสระดับปกติ คือมีฟอสฟอรัส 0.7 % พบว่าอาหารที่มีฟอสฟอรัส 0.4 % ทำให้ไตถูกทำลายมากขึ้น แคลเซียมถูกขับออกมากขึ้น มีภาวะกระดูกพรุนรวมทั้งอัตราการตายสูงขึ้น

มีรายงานว่า การขาดฟอสฟอรัสในคน ทำให้เพิ่มการดูดซึมแคลเซียม เนื่องจากมีการผลิต $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ เพิ่มขึ้น แต่ก็มี การขับแคลเซียมออกทางปัสสาวะมากขึ้น ทำให้เกิดภาวะ negative calcium balance (Dominguez *et al.*, 1976) ฟอสฟอรัสมีผลต่อการดูดซึมแคลเซียมได้ 2 ทาง คือทางตรง (direct effect) มีผลต่อการใช้ประโยชน์ได้ของแคลเซียม โดยผ่านการทำปฏิกิริยาระหว่างฟอสฟอรัสและแคลเซียมในอาหาร และทางอ้อม (indirect effect) โดยผ่านฮอร์โมนที่ตอบสนองต่อระดับของฟอสฟอรัสที่ขาดหรือเกิน การให้ฟอสฟอรัสที่สูงหรือมีอัตราส่วนระหว่างฟอสฟอรัสและแคลเซียมที่สูงเกินไปทำให้เกิดการสลายกระดูก เนื่องจากมีฮอร์โมนพาราไธรอยด์มากเกินไป (Anderson and Draper, 1972)

4. กระดูกเมดูลลารี (medullary bone) Sturkie (1965) รายงานว่าในกระดูกของสัตว์มีกระดูกสันหลังจะทำหน้าที่เป็นตัวเก็บสะสมแร่ธาตุ โดยเฉพาะแคลเซียมและฟอสฟอรัส สำหรับในไก่ไข่การนำแคลเซียมไปใช้เพื่อสร้างเปลือกนั้นจะมีการนำแคลเซียมจากกระดูกเมดูลลารีมาใช้ โดยที่กระดูกเมดูลลารีถูกพัฒนาขึ้นในช่วงของระยะสืบพันธุ์ซึ่งมีฮอร์โมนเอสโตรเจนเป็นตัวกระตุ้น แต่กระดูกเมดูลลารีนี้จะไม่พบในสัตว์เพศผู้ถึงแม้ว่าจะมีการให้ฮอร์โมนเอสโตรเจนก็ตาม

5. ฮอร์โมนที่เกี่ยวข้อง ฮอร์โมนที่เข้ามามีบทบาทในการเมตาบอลิซึมของแคลเซียม มีหลายตัวเช่น ฮอร์โมนพาราไธรอยด์ ฮอร์โมนเอสโตรเจน

5.1 ฮอร์โมนพาราไธรอยด์ (PTH) หรือ parathyrin หรือ thyrocalcitonin เป็นเปปไทด์ฮอร์โมนที่ผลิตจากต่อมพาราไธรอยด์ มีหน้าที่รักษาความเข้มข้นของแคลเซียมและฟอสฟอรัสในกระแสเลือด โดยจะลดระดับของฟอสฟอรัสในกระแสเลือด และจะเพิ่มระดับของแคลเซียมในกระแสเลือดโดยดึงแคลเซียมจากกระดูกเมดูลลารีมาใช้ ทำหน้าที่เพิ่มเซลล์ osteoclastic ซึ่งเป็นเซลล์ขนาดใหญ่ที่มีหลายนิวเคลียสทำหน้าที่สลายกระดูกเมดูลลารี โดยการหลั่งกรดออกมาเพื่อให้อยู่ในรูปสารละลายที่นำไปใช้ได้ เมื่อแคลเซียมในอาหารมีระดับต่ำจะทำให้ต่อมพาราไธรอยด์มีน้ำหนักมากขึ้น (Sturkie, 1986)

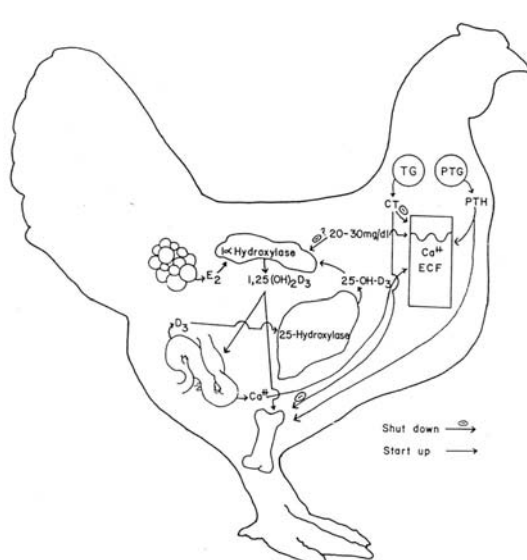
5.2 ฮอร์โมนเอสโตรเจน ฮอร์โมนเอสโตรเจนในสัตว์ปีกจะพบอยู่ในปัสสาวะ เลือดและรังไข่ โดยอยู่ในรูป estrone (E_1), 17β -estradiol (17β - E_2) และ 17α -estradiol (17α - E_2) เอสโตรเจนทำหน้าที่กระตุ้นการเจริญของท่อนำไข่ให้เตรียมพร้อมสำหรับการสร้างฟองไข่ และการเมตาบอลิซึมของแคลเซียม ซึ่งเอสโตรเจนจะทำงานตรงกันข้ามกับ PTH โดยจะลดการสูญเสียแคลเซียมจากกระดูกทำให้กระดูกแข็งแรง (Sturkie, 1976)

เอสโตรเจนสามารถกระตุ้นเอนไซม์ 1α hydroxylase ทำให้ 25-OH-D_3 เปลี่ยนเป็น $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ซึ่งเป็น active form ของ vitamin D ซึ่ง $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ มีผลต่อการ transcription ของ calbindin โดยที่ calbindin นี้ทำให้ลำไส้มีการดูดซึมแคลเซียมมากขึ้น (Soares, 1984) ดังในภาพที่ 5 Estrogen receptor- α ($ER\alpha$) ถูกพบใน duodenum ของสัตว์ปีก อันเป็นสาเหตุที่ทำให้มีการขนส่งแคลเซียมเพิ่มขึ้นใน duodenum และ $ER\alpha$ นี้จะลดลงเมื่ออายุเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าเอสโตรเจนเป็นตัวรักษาสมดุลของ osteoclastic และ osteoblastic ซึ่งแสดงถึงภาวะของกระดูกที่มีสภาพดี นอกจากนี้เมื่ออายุไก่เพิ่มขึ้นการตอบสนองต่อ tamoxifen จะเพิ่มขึ้น

ซึ่ง tamoxifen เป็น anti-estrogen ซึ่งจะไปยับยั้งการจับของ E_2 กับ E_2 receptor จึงทำให้คุณภาพเปลือกไข่ลดลง โดยที่ E_2 จะไม่เปลี่ยนแปลงตามอายุหลังจากโตเต็มวัยแล้ว แต่พบว่าจำนวนของ estrogen receptors ในท่อนำไข่ลดลง (Beck and Hansen, 2004)

จากรายงานของ Sturkie (1965) พบว่าเอสโตรเจนทำให้ระดับแคลเซียมทั้งหมดในซีรัมเพิ่มจาก 11.4 mg/100 ml เป็น 137 mg/100 ml และ inorganic serum phosphate เพิ่มจาก 5.4 mg/100 ml เป็น 22.0 mg/100 ml และ Qin and Klandorf (1995) รายงานว่า ข้อมูลจากหลายๆ งานวิจัย พบความสัมพันธ์ในเชิงบวกระหว่างคุณภาพเปลือกไข่และ E_2 แต่อย่างไรก็ตามจากการทดลองของเขาพบว่า estradiol ไม่สามารถปรับปรุงคุณภาพเปลือกไข่ได้

ไก่ที่เลี้ยงในสภาพอากาศร้อน (35°C) และความชื้นสัมพัทธ์ 50 % แคลเซียมทั้งหมดในมูลมีค่าเท่ากับ 6.6 % ส่วนไก่ที่เลี้ยงในสภาพควบคุมอุณหภูมิ (23°C) ความชื้นสัมพัทธ์ 50 % มีค่าเท่ากับ 5.4 % และพบความสัมพันธ์ระหว่าง Ca^{2+} กับ E_2 ในสภาพอากาศร้อน แต่ไม่มีความสัมพันธ์ในสภาพควบคุมอุณหภูมิ ซึ่ง Ca^{2+} ที่ลดลงจะไปยับยั้งการไหลเวียนของ E_2 และจะมีผลต่อการยับยั้งกระบวนการขนส่งแคลเซียมในลำไส้ ทำให้มีการขับออกมากขึ้น (Mahmoud *et al.*, 1996)



ภาพที่ 5 เมตาบอลิซึมของวิตามินดีและการควบคุมความสมดุลของแคลเซียม

ที่มา: Soares (1984)

6. สภาพแวดล้อม Peterson (1965) รายงานว่าจากหลายๆงานวิจัยแสดงให้เห็นว่าเมื่ออุณหภูมิสูง มีผลทำให้คุณภาพเปลือกไข่ลดลง สอดคล้องกับ Boushy (1966) ที่รายงานว่าความหนาเปลือกและระดับแคลเซียมในเปลือกมีค่าลดลง เมื่อเลี้ยงไก่ในสภาพที่มีอุณหภูมิและความชื้นสูง

ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงตั้งสมมุติฐานว่าการเสริม LMA จะสามารถใช้ทดแทน DLM ได้โดยมีสมรรถภาพการผลิตไม่แตกต่างกันซึ่งทำการศึกษาที่ระดับ bioefficacy 88 – 76% รวมทั้งคุณภาพของเปลือกไข่ และการสะสมแร่ธาตุที่มีการเสริม LMA ในระดับของ bioefficacy ที่แตกต่างกันในอาหารมีผลต่อคุณภาพของเปลือกไข่ และการสะสมแร่ธาตุ

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

สัตว์ทดลอง

ใช้ไก่ไข่พันธุ์ CP Brown อายุ 34 สัปดาห์ จำนวน 480 ตัว แบ่งเป็น 5 กลุ่ม 6 บล็อก 1 หน่วยการทดลองประกอบด้วยไก่ 16 ตัว โดยบล็อกตำแหน่งของแถวไก่ในโรงเรือน เลี้ยงในโรงเรือนที่ใช้ระบบการระเหยความเย็นจากน้ำ (evaporative cooling system) มีพัดลม 12 ตัว ตัวละ 3 ใบพัด ขนาด 36 นิ้ว ไก่ถูกเลี้ยงอยู่ในกรงตับเดี่ยวแบบ 2 ชั้น ขนาดกรง 20 x 40 x 36 ซม. มีรางอาหารอยู่ด้านหน้ากรง ใช้ถังบรรจุน้ำและต่อมาตามท่อที่ให้น้ำโดยใช้ระบบน้ำหยด (nipple) เพื่อเก็บปริมาณน้ำที่กิน ให้ไก่ได้รับอาหารและน้ำอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) ให้ไก่ได้รับแสงจำนวน 16 ชั่วโมงต่อวัน (ตั้งแต่เวลาประมาณ 05.00-21.00 น.) เลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

อาหารทดลอง

อาหารประกอบด้วยโปรตีน 16% พลังงาน (ME) 2,750 Kcal/kg โดยมีกลุ่มอาหารที่แตกต่างกัน 5 กลุ่มดังต่อไปนี้

1. อาหารที่ไม่ได้เสริม เมทไธโอนีน (Basal diet)
2. Basal diet เสริม ดีแอล-เมทไธโอนีน (DLM) จนถึงระดับ 0.365 % ของอาหาร
3. Basal diet เสริม ดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอนาลอค (LMA) 1.14 เท่า (weight/weight) ของ DLM (กลุ่มที่ 2) (100 หน่วยของ LMA มีค่าเท่ากับ 88 หน่วยของ DLM, คิดค่า bioefficacy ที่ 88 %) โดยเติม LMA 0.115 % ของอาหาร
4. Basal diet เสริม LMA 1.22 เท่า (weight/weight) ของ DLM (กลุ่มที่ 2) (100 หน่วยของ LMA มีค่าเท่ากับ 82 หน่วยของ DLM, คิดค่า bioefficacy ที่ 82 %) โดยเติม LMA 0.123 % ของอาหาร
5. Basal diet เสริม LMA 1.32 เท่า (weight/weight) ของ DLM (กลุ่มที่ 2) (100 หน่วยของ LMA มีค่าเท่ากับ 76 หน่วยของ DLM, คิดค่า bioefficacy ที่ 76 %) โดยเติม LMA 0.133 % ของอาหาร

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของวัตถุดิบอาหารพื้นฐานที่ใช้ในการทดลอง

วัตถุดิบอาหาร	%
ข้าวโพด	61.350
กากถั่วเหลือง	25.600
เปลือกหอย	9.410
น้ำมันถั่วเหลือง	1.700
โมโนแคลเซียมฟอสเฟต	1.450
พรีมิกซ์	0.250
เกลือ	0.215
ไลซีน	0.025
รวม	100.000

Premix: VAC MIX CHICK ประกอบด้วย วิตามินเอ 4MIU; วิตามินดี 3 0.8 MIU; วิตามินอี 4.0 g; วิตามินเค 3 0.8 g; วิตามินบี 2 2 g; วิตามินบี 12 0.006 g; กรดนิโคตินิก 8 g; แคลเซียมแพนโททีเนต 4.8 g; โคลีนา คลอไรด์ 40.0 g; กรดโฟลิก 0.2 g; เหล็ก 12 g; โคบอลต์ 0.2 g; แมงกานีส 40.0 g; ทองแดง 4.0 g; สังกะสี 32 g; ไอโอดีน 0.8 g; ซีลีเนียม 0.04 g; สารถนอมคุณภาพอาหาร 20.0 g; สารแต่งรส 4.0 g และเติมสีจันคราบ 1.00 kg

ตารางที่ 2 ปริมาณการเสริมเมทไธโอนีนสังเคราะห์ในอาหารทดลอง

กลุ่มอาหารทดลอง	ปริมาณอาหารผสมที่ เอาออก (%)	ปริมาณเมทไธโอนีนที่ เติม (%)	ปริมาณแป้งข้าวโพดที่ เติม (%)
1. อาหารพื้นฐาน	0.133	0.000	0.133
2. เสริม DLM	0.133	0.101	0.032
3. เสริม LMA 0.115 %	0.133	0.115	0.018
4. เสริม LMA 0.123 %	0.133	0.123	0.010
5. เสริม LMA 0.133 %	0.133	0.133	0.000

ตารางที่ 3 โภชนะจากอาหารพื้นฐานในการคำนวณและการวิเคราะห์ทางเคมี

โภชนะ	ปริมาณในอาหาร
จากการคำนวณ	
โปรตีนรวม (%)	16.31
พลังงานใช้ประโยชน์ (kcal/kg)	2758.55
แคลเซียม (%)	3.90
ฟอสฟอรัสใช้ประโยชน์ได้ (%)	0.40
จากการวิเคราะห์	
วัตถุแห้ง (%)	89.32
เถ้า (%)	13.52
โปรตีนรวม (%)	16.40
แคลเซียม (%)	3.93
ฟอสฟอรัสทั้งหมด (%)	0.70

ตารางที่ 4 ปริมาณกรดอะมิโนและสัดส่วนของกรดอะมิโนต่อไลซีนในอาหารทดลอง

กรดอะมิโน	สัดส่วน ในอาหาร ก่อนเติม Met (%)	สัดส่วน ใน อาหาร หลังเติม Met (%)	สัดส่วน มาตรฐาน, NRC (1994) (%)	สัดส่วน กรดอะมิโน/ ไลซีน ก่อนเติม Met (%)	สัดส่วน กรดอะมิโน/ ไลซีน หลังเติม Met (%)	สัดส่วน กรดอะมิโน/ ไลซีนที่แนะนำ ¹ (%)
Met	0.264	0.365	0.300	29.211	40.385	-
Met+Cys	0.654	0.755	0.586	72.456	83.630	85.900
Thr	0.647		0.473	71.626		70.300
Val	0.794		0.700	87.931		85.900
Ile	0.676		0.650	74.859		78.100
Leu	1.511		0.818	167.233		114.100
Phe+Tyr	1.460		0.827	161.680		125.300
His	0.498		0.172	55.1456		25.000
Arg	1.101		0.700	121.859		106.300
Lys	0.903		0.691	100.000		100.000

¹ Cole and Van Lumen (1994)

วิธีการ

แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) โดยแบ่งไก่ออกเป็น 5 ทรีทเมนต์ 6 บล็อก โดยใช้แถวที่ไก่อยู่ห่างจาก cooling pad แตกต่างกัน 6 แถวเป็นบล็อก ใน 1 หน่วยทดลองประกอบด้วยไก่ 16 ตัว รวม 480 ตัว

การบันทึกผลการทดลอง

1. สมรรถภาพการผลิตไข่

การบันทึกผลการทดลองแบ่งเป็น 3 ช่วงๆ ละ 28 วัน บันทึกข้อมูลพื้นฐาน ได้แก่ น้ำหนักตัวเริ่มทดลอง ผลผลิตไข่ และน้ำหนักไข่บันทึกทุกวัน ปริมาณอาหารที่กินบันทึกทุกสัปดาห์ จำนวนไก่ตาย อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ของโรงเรือนโดยเก็บข้อมูลเวลา 16.00 น.

2. คุณภาพไข่

สุ่มเก็บไข่เพื่อนำไปวัดสีฐานของไข่ โดยเก็บหน่วยทดลองละ 6 ฟอง สุ่มก่อนวันสุดท้าย 3 วันของแต่ละช่วง ชั่งน้ำหนักไข่ทั้งฟอง ความกว้าง ความยาวฟองไข่

สุ่มเก็บไข่เพื่อนำไปวัดคุณภาพไข่ โดยเก็บหน่วยทดลองละ 4 ฟอง สุ่มก่อนวันสุดท้าย 3 วันของแต่ละช่วง วัดความสูงไข่ขาว น้ำหนักไข่ขาว น้ำหนักไข่แดง สีไข่แดง วัดค่าความสูงไข่ขาวโดยเครื่องวัดความสูงไข่ขาว (tripod micrometer) ของบริษัท Technical services and supplies โดยวัดความสูงไข่ขาว ห่างจากไข่แดงประมาณ 0.5 ซม. จำนวน 3 จุด เพื่อนำค่าที่ได้มาคำนวณค่าฮอกยูนิต ไข่ขาวและไข่แดงถูกแยกออกจากกันเพื่อชั่งหาน้ำหนักสดโดยใช้เครื่องชั่งระบบดิจิทัลที่มีความละเอียด 0.1 g วัดสีไข่ไก่โดยใช้พัดวัดสีของบริษัทโรช (Roche yolk color fan) มีค่าความเข้มของสีตั้งแต่เบอร์ 1 ถึง 15 ตามความเข้มของสีไข่แดงที่เพิ่มขึ้น

3. คุณภาพเปลือกไข่

สุ่มเก็บไข่เพื่อนำไปวัดคุณภาพเปลือกไข่ โดยเก็บหน่วยทดลองละ 4 ฟอง สุ่มก่อนวันสุดท้าย 3 วันของแต่ละช่วง วัดความแข็งแรงเปลือกไข่ ความหนาเปลือก น้ำหนักเปลือก

วัดค่าความแข็งแรงของเปลือกไข่โดยใช้เครื่องวัดแรงดึงและแรงกดระบบดิจิทัล (Digital force gauge tension & compression) รุ่น FG 5000A ใช้หน่วยการวัดเป็น g โดยต่อกับอแดปเตอร์ชนิดหัวแบน(อุปกรณ์ที่ใช้ในการสัมผัสไข่) มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.6 ซม.

วัดพื้นที่ผิว (SA) ค่าดัชนีรูปร่างของฟองไข่ (Shape index, SI) น้ำหนักของเปลือกไข่ต่อพื้นที่ผิวบนฟองไข่ (Shell weight per unit surface area, SWUSA) ปริมาตรของเปลือกไข่ (Shell volume, SV) และความหนาแน่นของเปลือกไข่ (Shell density, SD) โดยใช้สูตรในการคำนวณดังนี้

พื้นที่ผิว (SA) วัดจากสูตรของ Carter (1975) คือ

$$SA \text{ (cm}^2\text{)} = 3.9782 W^{0.7056} \text{ เมื่อ } W \text{ คือน้ำหนักของฟองไข่ (g) (Carter, 1975)}$$

$$SI = (\text{ความกว้างของฟองไข่} / \text{ความยาวของฟองไข่}) \times 100$$

(Romanoff and Romanoff, 1949)

$$SWUSA \text{ (mg / cm}^2\text{)} = \text{น้ำหนักเปลือกไข่ (mg)} / \text{พื้นที่ผิวบนฟองไข่ (cm}^2\text{)}$$

(Ousterhout, 1980)

$$SV \text{ (cm}^3\text{)} = \text{พื้นที่ผิวบนฟองไข่ (cm}^2\text{)} \times \text{ความหนาของเปลือกไข่ (cm)}$$

(Rahn *et al.*, 1981)

$$SD \text{ (mg / cm}^3\text{)} = \text{น้ำหนักเปลือกไข่ (กรัม)} / [(\text{พื้นที่ผิวบนฟองไข่, cm}^2\text{)} (\text{ความหนาของเปลือกไข่, cm.})] \text{ (Curtis } et al., 1985)$$

วัดความหนาเปลือกไข่โดยเครื่องวัดความหนาเปลือกไข่แบบ Electronic digital micrometer มีความละเอียดอ่านได้ 0.001 มม. วัดความหนาเปลือกไข่วัดจากเปลือกไข่ที่มีเชื้อหุ้มไข่ติดอยู่ด้วยจำนวน 3 จุดแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

ชั่งน้ำหนักเปลือกไข่โดยตากเปลือกไข่ให้แห้งในอากาศที่อุณหภูมิห้องปกติ และใช้เครื่องชั่งระบบดิจิทัลที่มีความละเอียด 0.001 กรัม

4. โภชนะในมูล

สุ่มเก็บมูลสดเพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยใช้ภาชนะรองรับมูลได้ทรงจากไก่จำนวน 3 ซ้ำ/กลุ่ม ซ้ำละ 8 ตัว โดยเก็บ 7 วันสุดท้ายในแต่ละช่วงซึ่งจะสุ่มเก็บตามน้ำหนักมูลทั้งหมดในแต่ละวันและนำมูลทั้งหมดมารวมกันหลังจากนั้นจึงสุ่มเพื่อนำไปวิเคราะห์อีกครั้ง

5. การเก็บข้อมูลอวัยวะภายในร่างกาย

ในวันสุดท้ายสุ่มไก่จำนวน 8 ตัว/กลุ่ม โดยใช้ไก่ที่มีผลผลิตไข่ใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ยของกลุ่ม เพื่อเจาะเลือดที่เส้นเลือดดำบริเวณปีก (wing vein) ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3000 รอบ/นาทีเป็นเวลา 10 นาที แยกซีรัมเพื่อนำไปวิเคราะห์เอสตราไดออล (วิธีการอยู่ในภาคผนวก)

ซังน้ำหนักริ่ไม่มีชีวิตและฆ่าไก่โดยวิธี asphyxiation ด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ประมาณ 1.5-2.0 นาที ฆ่าและซากเพื่อนำดับ ระบบทางเดินอาหาร ระบบสืบพันธุ์ กระดูก tibia และไตมาวัดขนาดและซังน้ำหนักริ่ จากนั้นเก็บดับ กระดูก tibia ข้างขวา และซีรัมไว้ในตู้แช่ อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

วัดความยาวและซังน้ำหนักริ่ลำไส้ 5 ส่วน คือ duodenum, jejunum, ileum, cecum และ colon มีหน่วยเป็นเซนติเมตรและกรัม ตามลำดับ โดยลำไส้ส่วน duodenum คือ ความยาวลำไส้จากช่วงต่อจากกึ๋น (gizzard) ไปยังบริเวณสิ้นสุด descending duodenal loop ลำไส้ส่วน jejunum คือ ความยาวลำไส้จากช่วงสิ้นสุด duodenum ไปยังบริเวณจุดที่เรียกว่า Meckel's diverticulum ลำไส้ส่วน ileum คือ ความยาวลำไส้จากช่วงระหว่าง Meckel's diverticulum กับ ileo-cecal junction และลำไส้ส่วน colon คือ ความยาวลำไส้จากช่วง ileo-cecal junction ไปยังจุดสิ้นสุดลำไส้ส่วนปลาย (Iji *et al.*, 2001)

การวิเคราะห์ทางเคมี

สุ่มตัวอย่างอาหารทดลองเพื่อวิเคราะห์ส่วนประกอบต่างๆ คือ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า โดยวิธี proximate analysis ตามวิธีของ AOAC (1990) วิเคราะห์แคลเซียม ฟอสฟอรัส ตามวิธีของ AOAC (1990) วิเคราะห์กรดอะมิโนโดยใช้เครื่อง amino acid analyzer และนำอาหารไปวัด pH โดยใช้ pH meter

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของไข่ ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน คอลดเจน องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกไข่ ได้แก่ เถ้า แคลเซียม ฟอสฟอรัส ตามวิธีของ AOAC (1990)

เก็บตัวอย่างเลือดโดยเจาะเลือดไก่ที่เส้นเลือดดำบริเวณปีก (wing vein) นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3000 รอบ/นาที แยกซีรัมเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณเอสตราไดออล

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกระดูก tibia ข้างขวา ได้แก่ ความชื้น ไขมัน แคลเซียม ฟอสฟอรัส ตามวิธีของ AOAC (1990) โดยนำไปอบ สกัดไขมัน บด

วิเคราะห์ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของมูลไก่โดยใช้ pH meter และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของมูล ได้แก่ ความชื้น เถ้า แคลเซียม ฟอสฟอรัส ตามวิธีของ AOAC (1990)

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ตามแผนการทดลองแบบ RCBD และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธีของ Tukey's studentized range test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS (1990) โดยมีตัวแบบทางสถิติคือ

$$Y_{ij} = \mu + \text{Block}_i + \text{Tr}_j + \epsilon_{ij}$$

เมื่อ

Y_{ij} = ค่าสังเกตสำหรับลักษณะที่ศึกษาที่เกิดขึ้นจากไก่ในบล็อกที่ i ได้รับ
ทรีทเมนต์ที่ j

μ = ค่าเฉลี่ยรวม

Block_i = อิทธิพลจากแถวที่ไก่อยู่ห่างจาก cooling pad แตกต่างกัน 6 แถว และ
ถูกจัดให้เป็นบล็อก

Tr_j = อิทธิพลของรูปแบบหรือชนิดของอาหารที่มีเมทไธโอนีนแตกต่างกัน 5
ระดับ

ϵ_{ij} = ความคลาดเคลื่อนของการทดลองที่เกิดขึ้นจาก บล็อกที่ i และทรีทเมนต์
ที่ j โดย $\epsilon_{ij} \sim \text{NID}(0, \sigma^2)$

ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มการทดลอง ธันวาคม 2548

สิ้นสุดการทดลอง มีนาคม 2549

สถานที่ทำการทดลอง

- 1) ศูนย์วิจัยสัตว์กรุงเทพ ต.ในคลองบางปลากด อ.พระสมุทรเจดีย์ จ.สมุทรปราการ
- 2) ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน
- 3) ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์คุณภาพไข่ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์
คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

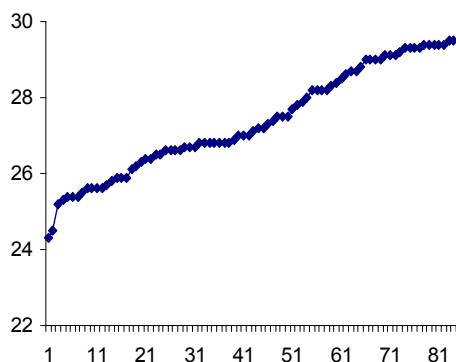
ผลและวิจารณ์

1. อุณหภูมิสภาพแวดล้อมของโรงเรือน

ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง (12 สัปดาห์) พบว่าอุณหภูมิของโรงเรือนค่อนข้างคงที่ (27.35 ± 1.39 °C) แต่มีแนวโน้มสูงขึ้นในช่วงท้าย เนื่องจากการทดลองประมาณปลายเดือนธันวาคม จนถึงเดือนมีนาคมซึ่งอยู่ในช่วงฤดูหนาวและเข้าสู่ฤดูร้อน ดังแสดงในภาพที่ 6 ส่วนความชื้นสัมพัทธ์มีค่าไม่คงที่ตลอดการทดลองโดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 75.41 ± 8.48 % ดังในภาพที่ 7

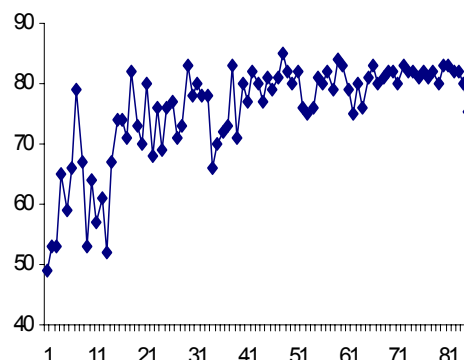
การใช้โรงเรือนระบบการระเหยไอน้ำจากน้ำ (evaporative cooling system) การระเหยไอน้ำจากน้ำเป็นกระบวนการที่บังคับให้อากาศผ่านแผงระบายความร้อน หรือแผงทำความเย็นที่มีน้ำไหลผ่าน (cooling pad) ซึ่งแผงนี้จะมีผิวหน้าสัมผัสสูง ความร้อนจากอากาศที่ผ่านเข้าไปจะทำให้เกิดการระเหยน้ำที่อยู่บริเวณผิวหน้าสัมผัสของแผงทำให้อุณหภูมิของอากาศที่ผ่านเข้าไปลดลงและความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้น โดยอุณหภูมิโรงเรือนที่ลดลงนั้น ทำให้สัตว์สามารถจัดการกับความร้อนที่ผลิตขึ้นจากร่างกายได้ดีขึ้น มีการย่อยอาหาร และมีกระบวนการทาง Metabolic ที่ดีขึ้น (Ferguson *et al.*, 2000) การศึกษาในครั้งนี้พบว่า อุณหภูมิที่ให้อยู่ในช่วง 24.3-29.5 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเลี้ยงไก่ไข่ในประเทศไทย สอดคล้องกับ ปฐม (2543) รายงานว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงไก่ไข่ในประเทศไทยควรอยู่ในช่วง 21.5-26.8 องศาเซลเซียส และไม่ควรมากกว่า 30 องศาเซลเซียส เนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่ทำให้ไก่เริ่มเกิดความเครียดและเริ่มหอบ (panting) ทำให้หายใจจับคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากร่างกายลดลง เป็นเหตุให้ค่า pH ในพลาสมาสูงขึ้น ก่อให้เกิดภาวะ Alkalosis (Odem *et al.*, 1986)

อุณหภูมิ (°C)



ภาพที่ 6 อุณหภูมิในช่วงการทดลอง

ความชื้นสัมพัทธ์ (%)



ภาพที่ 7 ความชื้นสัมพัทธ์ในช่วงการทดลอง

2. ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อสมรรถภาพการผลิตในไก่อายุ 34-46 สัปดาห์

2.1 ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อน้ำหนักตัว

ผลของน้ำหนักตัวแสดงในตารางที่ 5 พบว่าน้ำหนักตัวไก่เมื่อเริ่มต้นการทดลอง (34สัปดาห์) ไม่มีความแตกต่างกัน ไก่ในแต่ละกลุ่มมีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 1.85 ± 0.17 กิโลกรัมต่อตัว หลังจากเลี้ยงด้วยอาหารทดลองจนมีอายุ 46 สัปดาห์ พบว่ากลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีน มีน้ำหนักตัวมากกว่ากลุ่มที่ไม่มีการเสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) อย่างไรก็ตามไก่กลุ่มที่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีนทั้ง 2 แหล่ง มีน้ำหนักตัวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับรายงานของ Chung *et al.* (1998) รายงานว่าเมื่อเลี้ยงไก่ในสภาพแวดล้อมอุณหภูมิประมาณ 24 องศาเซลเซียส การเพิ่มเมทไธโอนีนในอาหารโปรตีน 14 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ไก่มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น ซึ่ง Festing and Nordskog (1967) พบว่าน้ำหนักตัวและน้ำหนักไขมีสหสัมพันธ์กันทางพันธุกรรมในทางบวก รวมทั้งทวิตส์กี (2456) พบว่าเมื่อเสริมเมทไธโอนีนในอาหารโปรตีน 14 % ทำให้น้ำหนักตัวไก่สูงขึ้น

เมทไธโอนีนเป็นกรดอะมิโนที่จำกัดอันดับหนึ่งในสัตว์ปีก อาหารที่มีสัดส่วนของกรดอะมิโนที่สมดุลทำให้การสังเคราะห์โปรตีนมีประสิทธิภาพขึ้น สอดคล้องกับกฎของ Liebig ที่

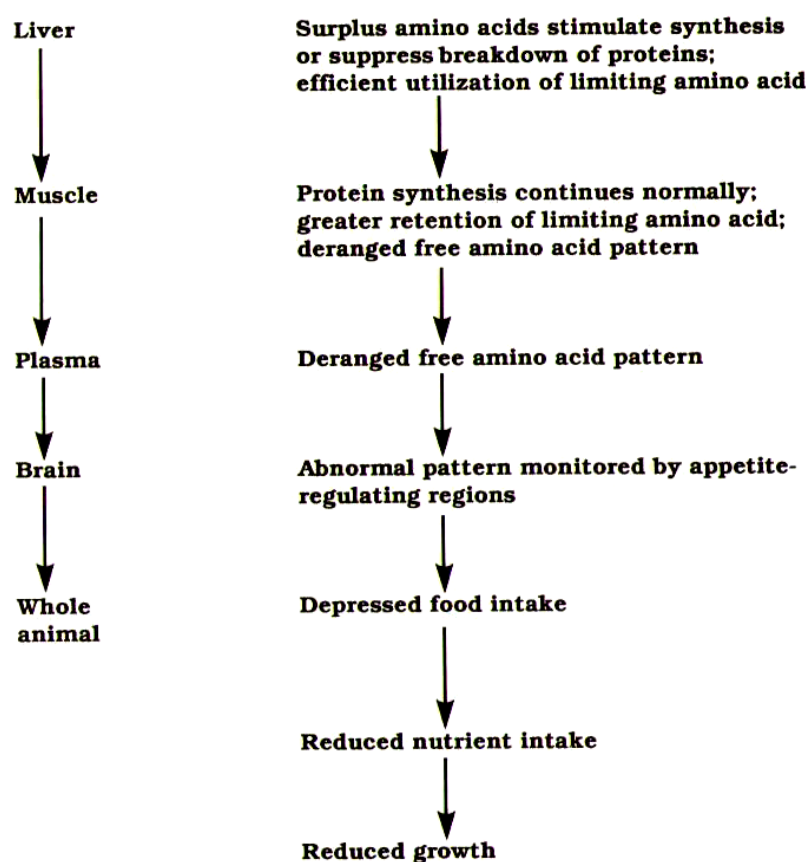
กล่าวถึง “Law of Minimums” ว่าการขาดกรดอะมิโนที่จำเป็นแม้เพียงหนึ่งตัวก็ทำให้การใช้ประโยชน์ได้ของกรดอะมิโนตัวที่เหลือลดลง (ชัยภูมิ, 2548) เช่นเดียวกับ Kino and Okmura (1986) ที่รายงานว่า ไก่ที่ได้รับเมทไธโอนีนไม่เพียงพอกับความต้องการของร่างกายจะมีการเจริญเติบโตช้า มีการสังเคราะห์โปรตีนในร่างกายลดลง จากการทดลองในไก่กระตังที่กินอาหารเสริมเมทไธโอนีนมีน้ำหนักสิ้นสุด น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตที่ดีกว่า กลุ่มที่ขาดเมทไธโอนีน (Ribeiro *et al.*, 2005; Schutte and Van Weerden, 1981) ดังนั้นไก่ในกลุ่มที่ไม่ได้เสริมเมทไธโอนีนมีน้ำหนักตัวน้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีน อาจจะมีสาเหตุมาจากความไม่สมดุลของกรดอะมิโน ซึ่งส่งผลต่อปริมาณอาหารที่กินลดลงดังจะได้อธิบายต่อไป

2.2 ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อปริมาณอาหาร โปรตีนและเมทไธโอนีนที่กิน

การเสริมเมทไธโอนีนในอาหาร มีผลต่อปริมาณอาหารที่กินมากกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) และไก่กลุ่มที่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีนทั้ง 2 แหล่ง มีปริมาณอาหารที่กินไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีน มีปริมาณอาหารที่กินเท่ากับ 96.41 ± 18.58 2.19 กรัม/ตัว/วัน ขณะที่กลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีน มีปริมาณอาหารที่กินเท่ากับ 108.35 ± 16.72 กรัม/ตัว/วัน 108.07 ± 16.04 กรัม/ตัว/วัน 106.86 ± 18.33 กรัม/ตัว/วัน และ 108.16 ± 18.24 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ นอกจากนี้การเสริมเมทไธโอนีนในอาหาร ทำให้ปริมาณโปรตีนและเมทไธโอนีนที่กินมากกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) อย่างไรก็ตามไก่กลุ่มที่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีนทั้ง 2 แหล่ง มีปริมาณโปรตีนและเมทไธโอนีนที่กินไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 5

Chwalibog (1992) รายงานว่าการกินอาหารขึ้นกับหลายปัจจัย เช่น พันธุ์ น้ำหนักตัว อุณหภูมิโรงเรือน และน้ำหนักร่างกาย ซึ่งปริมาณอาหารที่กินของไก่ไข่สอดคล้องกับปริมาณที่แนะนำของ NRC (1994) ที่รายงานว่าไก่ไข่กินอาหารวันละ 110 กรัม/ตัว/วัน ขณะที่ Harper and Rogers (1965) รายงานว่าการขาดกรดอะมิโนในอาหารทำให้เกิดกรดอะมิโนไม่สมดุล ซึ่งจะมีผลต่อดัชนีทำให้กรดอะมิโนส่วนที่เกินส่งผลให้กล้ามเนื้อเกิดการสะสมกรดอะมิโนที่จำกัดมากขึ้นเกิดการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของกรดอะมิโนอิสระในพลาสมา ซึ่งมีผลต่อสมองส่วนที่ควบคุมความอยากกินอาหารทำงานผิดปกติจึงทำให้การกินและการเจริญเติบโตลดลง ดังในภาพที่ 8 ดังนั้นการเสริม LMA และ DLM จึงทำให้สัดส่วนของกรดอะมิโนสมดุลขึ้นและมีการให้ผลผลิตที่มากกว่าใน กลุ่มที่ 1 ซึ่งขาดเมทไธโอนีน นอกจากนี้อัตราส่วนระหว่าง lysine และ TSAA ยังมีความสำคัญต่อการ

ใช้โปรตีนเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด (Novak *et al.*, 2004) จากการทดลองเสริม เมทไธโอนีน ทำให้อัตราการเจริญเติบโตและอัตราการเปลี่ยนอาหารดีขึ้นในหนูทดลอง และพบว่าเมทไธโอนีน ในพลาสมาสูงขึ้นเป็น 2 เท่าในกลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีนเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ขาด เพราะฉะนั้น เพื่อที่จะให้มีการสังเคราะห์โปรตีนเกิดขึ้นได้สูงที่สุดอาหารจะต้องมีกรดอะมิโนที่สมดุล (Saubertlich, 1956) ซึ่งการเสริมเมทไธโอนีนในการทดลองครั้งนี้พบว่าทำให้มีปริมาณการกิน อาหารสูงขึ้นแสดงให้เห็นถึงความสมดุลของกรดอะมิโนที่ดีขึ้นและการให้ DLM และ LMA ส่งผล ต่อความสมดุลของกรดอะมิโนที่เหมือนกัน



ภาพที่ 8 ผลของกรดอะมิโนไม่สมดุล

ที่มา: Harper and Rogers (1965)

2.3 ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อปริมาณน้ำที่กิน

การเสริมเมทไธโอนีนในอาหารทำให้ปริมาณน้ำที่กินมากกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) และในกลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีนทั้ง 2 แหล่งมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ในกลุ่มที่เสริม LMA พบว่า กลุ่มที่เสริม LMA 0.123 % มีการกินน้ำน้อยที่สุด โดยกลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีน มีปริมาณน้ำที่กินเท่ากับ 141.25 ± 20.87 กรัม/ตัว/วัน กลุ่มที่เสริม DLM และ LMA มีปริมาณน้ำที่กินเฉลี่ยเท่ากับ 162.69 ± 22.03 กรัม/ตัว/วัน 163.03 ± 19.18 กรัม/ตัว/วัน 158.53 ± 21.65 กรัม/ตัว/วัน และ 165.06 ± 23.20 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ

มีปัจจัยมากมายที่มีอิทธิพลต่อการกินน้ำ เช่น อุณหภูมิ ความชื้น ส่วนประกอบของอาหาร ผลผลิตของสัตว์ (อัตราการเจริญเติบโต หรืออัตราการไข่) และความสามารถเฉพาะตัวในการดูดซึมของไต (Anonymous, n.d.) และ Lesson and Summer (2000) รายงานว่าการกินน้ำมีความสัมพันธ์กับการกินอาหารอย่างมาก ซึ่งในการทดลองครั้งนี้พบว่าปริมาณน้ำและอาหารที่กินได้มีค่าสหสัมพันธ์เท่ากับ 0.84 ($p < 0.01$) การที่ไก่กินน้ำมากขึ้นเมื่อเสริมเมทไธโอนีนนั้นอาจจะสามารถอธิบายได้ดังต่อไปนี้

1. เมื่อสัตว์กินอาหารมากขึ้นจำเป็นต้องได้รับน้ำมากขึ้นด้วยเพราะน้ำเป็น reactant ในปฏิกิริยาในร่างกาย การที่สัตว์ได้รับอาหารมากขึ้นย่อมเกิดขบวนการเมตาบอลิซึมสูงขึ้น จึงต้องการน้ำในขบวนการต่างๆ ในร่างกาย

2. การที่สัตว์ได้รับอาหารมากขึ้นทำให้เกิด heat increment สูงขึ้น สัตว์จำเป็นต้องกินน้ำสูงขึ้นเพื่อลดระดับ heat increment แต่ในกลุ่มที่เสริม LMA 0.123 % มีการกินน้ำน้อยลงอาจเกิดจากการใช้อาหารอย่างมีประสิทธิภาพทำให้เกิด heat increment น้อยจึงต้องการน้ำเพื่อจذب heat increment น้อย ดังเช่นรายงานของ Sell and Rogler (1984) พบว่าการเสริมเมทไธโอนีนลงในอาหารโปรตีน 14 % สามารถลด heat increment ที่เกิดขึ้นจากการย่อยโปรตีนได้

3. กากถั่วเหลืองมีโพแทสเซียมสูง ซึ่งเป็นสาร electrolyte สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการกินน้ำในปริมาณมากขึ้น (James and Wheeler, 1949) ในการทดลองครั้งนี้พบว่าไก่กินอาหารได้มากขึ้นเมื่อเสริมเมทไธโอนีน ทำให้ได้รับโพแทสเซียมในปริมาณสูงขึ้นจึงกินน้ำในปริมาณมากขึ้น

4. อาจเกิดจากขบวนการทั้งหมดที่ได้รายงานมา

2.4 ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อผลผลิตไข่ (% Hen day) น้ำหนักไข่ มวลไข่ และการเปลี่ยนอาหารเป็นมวลไข่

การเสริมเมทไธโอนีนในอาหารทำให้ผลผลิตไข่มากกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยกลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีน มีผลผลิตไข่เท่ากับ 82.21 ± 13.41 % เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เสริม DLM และ LMA พบว่ามีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นกลุ่มที่เสริม LMA 0.133 % มีผลผลิตไข่สูงกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีผลผลิตไข่เฉลี่ยเท่ากับ 94.89 ± 5.79 % 94.03 ± 5.83 % 94.66 ± 5.74 % และ 96.51 ± 5.79 % ตามลำดับ

กลุ่มที่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีน ทำให้น้ำหนักไข่มากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) กลุ่มที่ได้รับอาหารที่ไม่ได้เสริมเมทไธโอนีน มีน้ำหนักไข่เฉลี่ยเท่ากับ 55.92 ± 2.84 กรัม และกลุ่มที่ได้รับอาหารที่เสริมกรดอะมิโนเมทไธโอนีนทั้ง 2 แหล่ง พบว่าไข่ในกลุ่มที่เสริม DLM มีน้ำหนักไข่เท่ากับกลุ่มที่เสริม LMA 0.123 % ส่วนกลุ่มที่เสริม LMA 0.115 % มีน้ำหนักไข่เท่ากับกลุ่มที่เสริม LMA 0.133 % โดยมีน้ำหนักไข่เฉลี่ยตลอดการทดลองเท่ากับ 61.26 ± 2.49 กรัม 60.75 ± 1.77 กรัม 61.36 ± 1.67 กรัม และ 60.95 ± 2.77 กรัม ตามลำดับ

การเสริมเมทไธโอนีน ทำให้มวลไข่มากกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เสริม DLM และ LMA พบว่ามีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นกลุ่มที่เสริม LMA 0.115 % มีมวลไข่ต่ำกว่ากลุ่มอื่น โดยมีมวลไข่เท่ากับ 46.15 ± 8.80 กรัม/ตัว/วัน 58.14 ± 4.36 กรัม/ตัว/วัน 57.12 ± 3.76 กรัม/ตัว/วัน 58.07 ± 3.72 กรัม/ตัว/วัน และ 58.83 ± 4.48 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ

การเสริมเมทไธโอนีนในอาหารทำให้การเปลี่ยนอาหารเป็นมวลไข่มีค่าน้อยกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) และเมื่อเปรียบเทียบแหล่งของกรดอะมิโนทั้ง 2 แหล่งมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าเท่ากับ 2.12 ± 0.42 กรัม/กรัมไข่ 1.86 ± 0.25 กรัม/กรัมไข่ 1.89 ± 0.25 กรัม/กรัมไข่ 1.84 ± 0.34 กรัม/กรัมไข่ และ 1.84 ± 0.25 กรัม/กรัมไข่ ตามลำดับ

จากการทดลองพบว่าไก่กลุ่มที่ขาดเมทไธโอนีน ทำให้ผลผลิตไข่ต่ำลง ซึ่งสอดคล้องกับ Ingram *et al.*, (1951) ที่พบว่าผลผลิตไข่นั้นลดลงอย่างรวดเร็วในไก่ไข่กลุ่มที่ขาดเมทไธโอนีนในอาหาร นอกจากนี้ Grossman and Koops (2001) รายงานว่าการให้ผลผลิตไข่ขึ้นอยู่กับอายุของไก่ รวมทั้งความคงทนในการให้ผลผลิตไข่

การเสริม LMA ที่คำนวณให้มีค่า bioefficacy 82 % (0.123 %) ของ DLM พบว่าผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่และมวลไข่ ให้ผลไม่แตกต่างจาก DLM ส่วนการเสริมที่ 0.115 % และ 0.133 % พบว่าที่ 0.115 % มีค่าน้ำหนักไข่ และมวลไข่ต่ำกว่า แต่มีผลผลิตไข่เท่ากับ 0.123 % ($p < 0.01$) ส่วนที่ 0.133 % มีค่าผลผลิตไข่สูงกว่าที่ 0.123 % น้ำหนักไข่ต่ำกว่าที่ 0.123 % แต่มวลไข่เท่ากับที่ 0.123 % ($p < 0.01$) ดังในตารางที่ 5 จึงอาจสรุปได้ว่า การเสริม LMA ที่ระดับ 0.115 % ไม่เพียงพอต่อความต้องการ และการเสริมที่ 0.133 % ทำให้มีการผลิตไข่มากน้ำหนักไข่จึงน้อยลงรวมทั้งเป็นระดับที่สูงเกินไปเนื่องจากเมื่อพิจารณาจากค่ามวลไข่แล้วพบว่ามีค่ามวลไข่เท่ากับการเสริมที่ระดับ 0.123 % ซึ่งจากการทดลองครั้งนี้มีค่า bioefficacy ต่ำกว่า Liu *et al.* (2004) ที่พบว่า LMA มี bioefficacy เฉลี่ย 88 % ของ DLM ผลจากการทดลองนี้สอดคล้องกับ ชัยภูมิ (2548) ที่รายงานค่า K_m ของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับขบวนการสลายมักสูงกว่า K_m ของเอนไซม์ที่ใช้สร้าง ดังนั้นเมื่อมีการให้กรดอะมิโนแก่สัตว์ในระดับต่ำ กรดอะมิโนจะถูกสังเคราะห์อย่างมีประสิทธิภาพ แต่หากให้กรดอะมิโนที่เกินความต้องการสำหรับการสังเคราะห์โปรตีนแล้วขบวนการ oxidation ของกรดอะมิโนก็จะสูงขึ้น โดยจากการทดลองครั้งนี้เมื่อให้ LMA ในระดับต่ำคือ 0.123 % ทำให้มีการสังเคราะห์อย่างมีประสิทธิภาพ แต่เมื่อมีการเสริม LMA 0.133 % ซึ่งเกินความต้องการ เมทไธโอนีนส่วนที่เกินก็จะสลายไปโดยพิจารณาจากค่ามวลไข่ที่ไม่เพิ่มขึ้นและเท่ากับการเสริม LMA 0.123 %

การเสริมเมทไธโอนีนในอาหารทำให้น้ำหนักไข่มากขึ้น สอดคล้องกับ Chung *et al.* (1998) รายงานว่าปริมาณโปรตีนและเมทไธโอนีนในอาหารมีผลโดยตรงต่อน้ำหนักฟองไข่ และ Fisher (1969) รายงานว่าการเลี้ยงไก่ไข่ด้วยอาหารที่จำกัดปริมาณเมทไธโอนีน ทำให้น้ำหนักฟองไข่ลดลง 2 ถึง 3 กรัม โดยน้ำหนักองค์ประกอบของฟองไข่ ได้แก่ ไข่แดง ไข่ขาว และเปลือกไข่ลดลงทั้งหมด

ค่ามวลไข่คำนวณจากผลคูณของเปอร์เซ็นต์ไข่น้ำหนักไข่ ซึ่งอาหารที่ไม่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีน ทำให้ผลผลิตไข่และน้ำหนักไข่น้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีน ดังนั้นเมื่อนำมาคำนวณจึงทำให้ค่ามวลไข่ในกลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีนต่ำกว่ากลุ่มที่

ได้รับการเสริมเมทไธโอนีน ซึ่งจากผลในครั้งนี้สอดคล้องกับหลายงานวิจัย โดย Reid and Weber (1973) พบว่าการเสริมกรดอะมิโนเมทไธโอนีนมีผลต่อการเพิ่มผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ และมวลไข่ ขณะที่ Thayer *et al.* (1974) รายงานว่าไก่ไข่ที่ได้รับอาหารที่มีการปรับสมดุลของกรดอะมิโน ทำให้ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ รวมถึงมวลไข่ดีขึ้น รวมทั้ง Shafer *et al.* (1996) รายงานว่าปริมาณเมทไธโอนีนที่กินมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่ามวลไข่ เช่นเดียวกับ Summers *et al.* (1991) รายงานว่าการเสริมกรดอะมิโนเมทไธโอนีนระดับ 0.32 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารโปรตีนต่ำ (10 % CP) ทำให้มวลไข่เพิ่มขึ้น 10 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากกรดอะมิโนเมทไธโอนีนมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมทาโบลิซึมของโปรตีนมาก ดังนั้นเมื่อเสริมเมทไธโอนีนในอาหารจะช่วยปรับสมดุลของกรดอะมิโนจึงทำให้ประสิทธิภาพการผลิตของไก่ไข่ดีขึ้น (Sell and Rogler, 1984)

จากการทดลองนี้พบว่า LMA มี bioefficacy เท่ากับ 82 % ของ DLM (เดิม LMA 0.123 % ของอาหาร) ต่อดัชนีมวลไข่ ซึ่งสูงกว่า Danner and Bessei (2002) ที่พบว่า LMA มี bioefficacy เท่ากับ 67 % ของ DLM ต่อดัชนีมวลไข่ การที่ LMA มีประสิทธิภาพต่ำกว่า DLM นั้นอาจเกี่ยวข้องกับกลไกการย่อย การดูดซึม และการเปลี่ยน LMA เป็น L-Met (Liu *et al.*, 2004) อย่างไรก็ตาม Han *et al.* (1990) รายงานว่าการย่อยได้ไม่แตกต่างกัน แต่ LMA มีการดูดซึมต่ำกว่า DLM (Maenz and Engele-Schaan, 1996)

การเสริมเมทไธโอนีนทำให้การเปลี่ยนอาหารเป็นมวลไข่ดีขึ้น เนื่องจากเมื่อเสริมเมทไธโอนีนทำให้ไก่มีมวลไข่มากขึ้น จึงมีค่าการเปลี่ยนอาหารเป็นมวลไข่ต่ำลง ซึ่งจากการทดลองพบว่าไก่ที่ได้รับ LMA ที่ระดับ bioefficacy ตั้งแต่ 88 – 76 % ของ DLM มีการเปลี่ยนอาหารเป็นมวลไข่ไม่แตกต่างจาก DLM ในขณะที่ Danner and Bessei (2002) พบว่า LMA มี bioefficacy เท่ากับ 69 % ของ DLM เมื่อคิดจากค่าการเปลี่ยนอาหารเป็นมวลไข่ และในการทดลองครั้งนี้พบว่าเมทไธโอนีนทำให้การเปลี่ยนอาหารเป็นมวลไข่ดีขึ้นสอดคล้องกับ Chung *et al.* (1998) และ Bunchasak and Silapasorn (2005) รายงานว่าการเสริมเมทไธโอนีนในอาหารโปรตีนต่ำมีผลให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไข่ดีกว่ากลุ่มควบคุม

2.5 ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่ออัตราการตาย

ไก่ไข่ที่ได้รับเมทไธโอนีนในอาหารแตกต่างกัน ไม่มีผลต่ออัตราการตายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีน เสริม DLM LMA 0.115 % LMA 0.123 % และ LMA 0.133 % พบว่ามีอัตราการตายเท่ากับ 0.17 ± 0.42 % 0.00 ± 0.00 % 0.00 ± 0.00 % 0.00 ± 0.00 % และ 0.52 ± 0.88 % ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

จากการทดลองพบว่าระดับเมทไธโอนีนในอาหารไม่มีผลต่ออัตราการตาย เนื่องจากว่าไก่ไข่อยู่ในโรงเรือนระบบปิดที่มีการควบคุมอุณหภูมิและมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม ซึ่งสอดคล้องกับ Fernandez *et al.* (1973) ได้ศึกษาในไก่พันธุ์เล็กฮอร์นขาวอายุ 20 สัปดาห์ ถึงผลของโปรตีนและการเปลี่ยนแปลงระดับโปรตีนในไก่พันธุ์เล็กฮอร์นขาวอายุ 20 สัปดาห์ พบว่าการเปลี่ยนแปลงระดับโปรตีน 18 % เป็น 15 % และ โปรตีน 15 % เป็น 13 % ไม่มีผลต่ออัตราการตาย นอกจากนั้นยังพบว่าการเสริมกรดอะมิโนเมทไธโอนีน 0.05 % ในสูตรอาหารที่มีโปรตีน 13 % ทำให้อัตราการตายไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับโปรตีน 15 17 และ 18 % แสดงให้เห็นว่าการได้รับเมทไธโอนีนในระดับ 250-410 มิลลิกรัม/ตัว/วันไม่ส่งผลต่ออัตราการตายของไก่ไข่

ตารางที่ 5 ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อสมรรถภาพการผลิตในไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์

ลักษณะที่ศึกษา	Basal	DLM	LMA 0.115 %	LMA 0.123 %	LMA 0.133 %	p-value
น้ำหนักตัวเริ่มต้น (kg)	1.85 ± 0.17	1.85 ± 0.17	1.85 ± 0.17	1.85 ± 0.17	1.85 ± 0.17	1.0000
น้ำหนักสิ้นสุด (kg)	1.73 ± 0.27 ^B	1.94 ± 0.23 ^A	1.91 ± 0.20 ^A	1.93 ± 0.24 ^A	1.95 ± 0.24 ^A	< 0.0001
ปริมาณอาหารที่กิน (g/hen/day)	96.41 ± 18.58 ^B	108.35 ± 16.72 ^A	108.07 ± 16.04 ^A	106.86 ± 18.33 ^A	108.16 ± 18.24 ^A	< 0.0001
ปริมาณโปรตีนที่กิน (g/hen/day)	15.81 ± 3.05 ^B	17.87 ± 2.17 ^A	17.83 ± 2.46 ^A	17.64 ± 3.05 ^A	17.86 ± 2.97 ^A	< 0.0001
ปริมาณเมทไธโอนีนที่กิน (g/hen/day)	0.25 ± 0.08 ^B	0.39 ± 0.08 ^A	0.39 ± 0.08 ^A	0.40 ± 0.08 ^A	0.41 ± 0.08 ^A	< 0.0001
ปริมาณน้ำที่กิน (g/hen/day)	141.25 ± 20.87 ^C	162.69 ± 22.03 ^{AB}	163.03 ± 19.18 ^{AB}	158.53 ± 21.65 ^B	165.06 ± 23.20 ^A	< 0.0001
ผลผลิตไข่ (%)	82.21 ± 13.41 ^C	94.89 ± 5.79 ^B	94.03 ± 5.83 ^B	94.66 ± 5.74 ^B	96.51 ± 5.79 ^A	< 0.0001
น้ำหนักไข่ (g)	55.92 ± 2.84 ^C	61.26 ± 2.49 ^A	60.75 ± 1.77 ^B	61.36 ± 1.67 ^A	60.95 ± 2.77 ^B	< 0.0001
มวลไข่ (g/hen/day)	46.15 ± 8.80 ^C	58.14 ± 4.36 ^A	57.12 ± 3.76 ^B	58.07 ± 3.72 ^A	58.83 ± 4.48 ^A	< 0.0001
ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร (g/g egg)	2.12 ± 0.42 ^A	1.86 ± 0.25 ^B	1.89 ± 0.25 ^B	1.84 ± 0.34 ^B	1.84 ± 0.25 ^B	< 0.0001
อัตราการตาย (%)	0.17 ± 0.42	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.52 ± 0.88	0.2274

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{AB และ C} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.01)

จำนวนไข่ที่ใช้เป็นไข่ทั้งหมดที่ได้จากการทดลองทั้ง 3 ช่วง

3. ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อคุณภาพไข่

การเสริม เมทไธโอนีน ทำให้น้ำหนักไข่ น้ำหนักไข่ขาว ไข่แดง มีค่ามากขึ้น (กรัม/ฟอง) ($p < 0.01$) แต่เมื่อคิดเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ฟองไข่แล้วพบว่าไม่มีค่าไม่แตกต่างกัน สีไข่แดง ความสูงไข่ขาว มีค่าไม่แตกต่างกัน ค่าฮอกยูนิตในกลุ่มที่เสริมมีค่าน้อยกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีน ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างแหล่งของเมทไธโอนีน ในกลุ่มที่เสริม LMA ค่าฮอกยูนิตมีแนวโน้มมากกว่ากลุ่มที่เสริม DLM และค่าฮอกยูนิตไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกลุ่มที่เสริม LMA ที่ระดับแตกต่างกัน ดังในตารางที่ 6

จากการทดลองของ Shafer *et al.* (1996) พบว่าน้ำหนักฟองไข่เพิ่มขึ้นเมื่อเสริมเมทไธโอนีน ซึ่งการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักฟองไข่อาจเกิดจากน้ำหนักไข่แดงและไข่ขาวเพิ่มขึ้น (Romanoff and Romanoff, 1949) โดยไข่แดงจะถูกสร้างอย่างต่อเนื่องในตับ และถูกส่งมาที่รังไข่หลังจากนั้น เมื่อไข่แดงเคลื่อนมาในท่อนำไข่จะมีการสร้างไข่ขาว ดังนั้นการที่น้ำหนักไข่แดงและไข่ขาวเพิ่มขึ้น จึงน่าจะมาจากตับและท่อนำไข่มีการสร้างไข่แดงและไข่ขาวมากขึ้น จึงทำให้น้ำหนักฟองไข่เพิ่มขึ้น

วิโรจน์ (2537) รายงานว่าสีของไข่แดงเปลี่ยนแปลงตามชนิดอาหาร ถ้าอาหารมีเม็ดสีมาก โดยเฉพาะเม็ดสีแซนโทฟิล (xanthophyll) จะทำให้ไข่แดงมีสีเข้มจัด ซึ่งผลการทดลองครั้งนี้ พบว่าการเสริมเมทไธโอนีนไม่ทำให้สีไข่แดงแตกต่างกัน แสดงว่าเมทไธโอนีนไม่มีความสัมพันธ์กับการขนส่งเม็ดสีจากอาหารสู่ไข่แดง

ความสูงไข่ขาวในการทดลองครั้งนี้มีค่าไม่แตกต่างกัน แต่น้ำหนักไข่แตกต่างกัน ดังนั้นการที่ค่าฮอกยูนิตแตกต่างกันน่าจะเป็นผลมาจากน้ำหนักไข่ที่แตกต่างกันเนื่องจากค่าฮอกยูนิตได้จากสูตร $HU = 100 \times \log [H + 7.57 - 1.7 W^{0.37}]$ เมื่อ HU คือค่าฮอกยูนิต H คือความสูงไข่ขาว (mm) และ W คือน้ำหนักฟองไข่ (Roush, 1981) Williams (1992) รายงานว่าค่าฮอกยูนิตเป็นค่าที่ใช้วัดคุณภาพไข่ที่ยอมรับกันโดยทั่วไป ซึ่ง Novak *et al.* (2004) รายงานว่าฮอกยูนิตไม่ได้รับอิทธิพลจากไลซีน หรือ TSAA อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่เสริมและเสริมเมทไธโอนีน ทำให้ค่าฮอกยูนิตต่ำลงอาจเป็นเพราะว่าน้ำหนักฟองไข่มีค่ามากขึ้นจึงมีพื้นที่ผิวมากขึ้น (Solomon, 1985) ทำให้สูญเสีย CO_2 ออกจากฟองไข่ได้ง่าย pH สูงขึ้นไข่ขาวจึงเหลวมากกว่าไข่ฟองเล็ก โดยมีรายงานยืนยันว่าการทำให้ไข่เย็นอย่างรวดเร็วโดยใช้ CO_2 จะปรับปรุงค่าฮอกยูนิตในระหว่างการเก็บได้ (Keener *et al.*, 2000) การเสริม LMA ในการทดลองครั้งนี้ทำให้ค่าฮอกยูนิตมีแนวโน้มมากกว่าการใช้ DLM อาจเป็นผลมาจากความเป็นกรดของ LMA ไปทำให้ pH ต่ำลง เนื่องจากมี

รายงานว่าการเสริมกรดทำให้ค่าสอกลูตินสูงขึ้น (Hall and Helbacka, 1959) อย่างไรก็ตามจากการทดลองของ Kuchkersan *et al.* (2005) ได้เสริมกรด humic พบว่าในอัตรา 30 และ 60 กรัม / ตันอาหาร ไม่ทำให้ความหนา ความแข็งแรงเปลือก ค่าสอกลูติน ค่าสีไข่ไก่เปลี่ยนแปลง

มีรายงานว่าสอกลูตินเป็นค่าที่ไม่ถูกต้องนัก เนื่องจากการนำน้ำหนักไข่เข้ามาคำนวณด้วย ดังนั้นควรใช้ความสูงไข่ขาวเพื่อวัดคุณภาพไข่ในการแสดงถึงความสดจะมีความถูกต้องมากกว่า โดยที่โปรตีนในไข่ขาวที่เรียกว่า ovomucin เป็นตัวกำหนดความสูงไข่ขาว แต่ขบวนการทางเคมีที่เปลี่ยนแปลงอันเกี่ยวข้องกับความสูงที่ลดลงยังไม่ชัดเจน (Silversides and Budgell, 2004) ความสูงที่ลดลงอาจเกี่ยวข้องกับการถูกย่อยสลายของ ovomucin การสลายพันธะ disulfide การทำปฏิกิริยากับ lysozyme รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงระหว่าง α - และ β - ovomucin (Stevens, 1996) ในแง่ของโภชนาการ Naber (1979) รายงานว่าสารอาหารไม่มีอิทธิพลต่อคุณภาพไข่ขาวมากนัก ซึ่งขัดแย้งกับ Hammershoj and Kjaer (1999) ที่รายงานว่าคุณภาพของไข่ขาวจะลดลงเมื่อเพิ่มโปรตีนและกรดอะมิโน ซึ่งในการทดลองครั้งนี้พบว่าการเสริมกรดอะมิโนทำให้ค่าสอกลูตินลดลงเช่นกัน และ Monsey *et al.* (1977) พบว่า การให้แมกนีเซียมสามารถยับยั้งไม่ให้ความสูงไข่ขาวต่ำลงในระหว่างการเก็บรักษา

ตารางที่ 6 ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อคุณภาพของไข่ในไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์

ลักษณะที่ศึกษา	Basal	DLM	LMA 0.115 %	LMA 0.123 %	LMA 0.133 %	p-value
น้ำหนักไข่ (g)	56.50 ± 3.90 ^B	60.81 ± 3.05 ^A	60.90 ± 2.80 ^A	60.53 ± 2.37 ^A	60.58 ± 3.05 ^A	<0.0001
น้ำหนักไข่แดง (g)	14.84 ± 1.70 ^B	16.20 ± 1.61 ^A	16.17 ± 1.36 ^A	15.86 ± 1.44 ^A	16.16 ± 1.78 ^A	<0.0001
ไข่แดง (%)	26.28 ± 2.37	26.64 ± 2.12	26.56 ± 2.03	26.21 ± 2.29	26.64 ± 2.21	0.6141
น้ำหนักไข่ขาว (g)	33.04 ± 2.80 ^B	35.25 ± 2.21 ^A	35.48 ± 2.37 ^A	35.50 ± 2.21 ^A	34.75 ± 2.03 ^A	<0.0001
ไข่ขาว (%)	58.52 ± 3.47	57.99 ± 2.71	58.25 ± 2.46	58.64 ± 2.88	57.40 ± 2.71	0.0789
สีไข่แดง	8.19 ± 1.70	8.21 ± 1.70	8.23 ± 1.61	8.29 ± 1.78	8.30 ± 1.78	0.9945
ความสูงไข่ขาว (mm)	5.02 ± 1.10	4.60 ± 1.10	5.03 ± 1.44	4.92 ± 1.19	4.86 ± 1.19	0.2152
ฮอกยูนิต	68.97 ± 10.78 ^a	62.93 ± 11.20 ^b	66.47 ± 12.90 ^{ab}	66.23 ± 11.03 ^{ab}	65.37 ± 12.30 ^{ab}	0.0388

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{A และ B} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)

^{a และ b} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

สีไข่แดงวัดโดยใช้พัควัดสี

จำนวนไข่ที่ใช้เป็นไข่ที่ได้จากการสุ่มก่อนวันสุดท้าย 3 วันจากการทดลองทั้ง 3 ช่วง

4. ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อองค์ประกอบทางเคมีของไข่

การเสริมเมทไธโอนีนไม่มีผลต่อความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์โปรตีนในฟองไข่แต่เมื่อคิดเป็นน้ำหนักโปรตีนต่อฟอง (ไม่รวมเปลือก) มีค่ามากกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีน ($p < 0.05$) สำหรับไขมันในฟองไข่พบว่าเมื่อเสริมเมทไธโอนีนทำให้เปอร์เซ็นต์ไขมันและน้ำหนักไขมันเพิ่มขึ้นมากกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบแหล่งของเมทไธโอนีนไม่แตกต่างกัน แต่การเสริม LMA ในระดับสูงขึ้นทำให้โปรตีนและไขมันสูงขึ้น (g) เมื่อเพิ่มระดับจาก LMA 0.115 % เป็น 0.123 % แต่มีแนวโน้มลดลงเมื่อเสริมในระดับสูงสุด (0.133 %) ดังในตารางที่ 7

ในการทดลองครั้งนี้พบว่า การเสริมเมทไธโอนีนไม่ทำให้เปอร์เซ็นต์โปรตีนในไข่ทั้งฟองเพิ่มขึ้น แต่เมื่อคิดเป็นน้ำหนักโปรตีนในไข่ทั้งฟองในกลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีนมีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริมอาจเกิดจากการที่มีน้ำหนักไข่แดงและไข่ขาวมากขึ้น โดยที่โปรตีนในไข่แดงถูกสร้างมาจากตับ และเมื่อไข่แดงถูกส่งมาในท่อนำไข่ก็จะมีการสร้างไข่ขาวในส่วนของ magnum โดยสังเคราะห์โปรตีนมากที่สุด ซึ่งไข่ใช้เวลาอยู่ใน magnum เป็นเวลา 3 ชั่วโมง (Novak *et al.*, 2004) การที่เสริมเมทไธโอนีนทำให้มีจำนวนไข่มากขึ้น ดังนั้นตับและท่อนำไข่จึงต้องทำหน้าที่สังเคราะห์โปรตีนมากขึ้นเพื่อส่งโปรตีนไปที่ฟองไข่ สอดคล้องกับการทดลองของ Hiramoto *et al.* (1990) ที่พบว่าในไก่อายุ 10 เดือน เมื่อได้รับอาหารที่ขาดเมทไธโอนีน ทำให้ปริมาณการสังเคราะห์โปรตีนในตับและท่อนำไข่มีค่าน้อยกว่ากลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีน สรุปได้ว่าในกลุ่มที่ขาดเมทไธโอนีนจะมีการสังเคราะห์โปรตีนรวมทั้งน้ำหนักไข่แดงไข่ขาวน้อยลง จึงทำให้น้ำหนักโปรตีนต่อฟองน้อยลง นอกจากนี้การเสริมเมทไธโอนีนทำให้ไขมันในไข่เพิ่มขึ้นเนื่องจากการเสริมเมทไธโอนีนทำให้มีการสังเคราะห์กรดไขมันในตับมากขึ้น (Smith *et al.*, 1983) โดยในการสังเคราะห์และสะสมไขมันในตับเกิดจากอิทธิพลของฮอร์โมนเอสโตรเจนซึ่งส่วนใหญ่ถูกสังเคราะห์จากรังไข่ (Akiba *et al.*, 1982) ซึ่งจะได้อธิบายต่อไปในส่วนการศึกษาของฮอร์โมน

ตารางที่ 7 ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อองค์ประกอบไขในไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์

ลักษณะที่ศึกษา	Basal	DLM	LMA 0.115 %	LMA 0.123 %	LMA 0.133 %	p-value
น้ำหนักไข่ (g)	50.56 ± 2.77 ^B	54.72 ± 3.60 ^A	54.67 ± 2.56 ^A	55.93 ± 2.35 ^A	56.05 ± 2.56 ^A	<0.0001
น้ำหนักแห้ง (%)	25.49 ± 1.11	26.25 ± 1.28	26.32 ± 1.35	26.38 ± 1.18	25.71 ± 1.18	0.2250
โปรตีน (%)	12.71 ± 0.41	12.03 ± 0.97	12.67 ± 0.73	12.63 ± 0.45	12.22 ± 0.31	0.0519
โปรตีน (g)	6.42 ± 0.45 ^B	6.55 ± 0.52 ^{AB}	6.92 ± 0.52 ^{AB}	7.01 ± 0.41 ^A	6.84 ± 0.41 ^{AB}	0.0183
ไขมัน (%)	6.72 ± 0.62 ^B	7.79 ± 0.59 ^A	7.03 ± 0.66 ^B	8.26 ± 0.55 ^A	7.71 ± 0.59 ^A	<0.0001
ไขมัน (g)	3.40 ± 0.38 ^D	4.27 ± 0.42 ^{AB}	3.83 ± 0.38 ^C	4.61 ± 0.28 ^A	4.32 ± 0.38 ^{AB}	<0.0001

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^A และ ^B ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)

จำนวนไข่ที่ใช้เป็นไข่ที่ได้จากการสุ่มก่อนวันสุดท้าย 3 วันจากการทดลองทั้ง 3 ช่วง

5. ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อลักษณะรูปร่างของไข่

การเสริมเมทไธโอนีน ทำให้น้ำหนักไข่ ความกว้าง ความยาว พื้นที่ผิวของไข่มีค่ามากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีนในอาหารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) การเสริมเมทไธโอนีนทั้ง 2 แหล่งไม่มีความแตกต่างกัน โดยที่การเสริมเมทไธโอนีนในอาหารไม่มีอิทธิพลต่อดัชนีรูปร่างของไข่ ดังในตารางที่ 8

การเสริมเมทไธโอนีนทำให้น้ำหนักไข่มากขึ้น ซึ่งน้ำหนักของไข่ที่มากขึ้นนั้นเกิดจากการขยายออกทั้งด้านกว้างและยาวของไข่สอดคล้องกับ Portillo *et al.* (2004) รายงานว่าน้ำหนักไข่มีค่าสหสัมพันธ์สูงกับความกว้างของไข่ ($r = 0.82$ ถึง 0.90) ผลของเมทไธโอนีนนี้สอดคล้องกับ Ehtesham and Chowdhury (2002) ที่รายงานว่าการใช้อาหารที่มีระดับโปรตีนและพลังงานแตกต่างกันมีผลให้ความกว้างของไข่แตกต่างกัน โดยไก่ไข่กลุ่มที่ได้รับอาหารโปรตีนสูง มีความกว้างของไข่มากกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารโปรตีนต่ำ จากการทดลองครั้งนี้พบว่าน้ำหนักไข่มีสหสัมพันธ์เชิงบวกกับความกว้างของไข่ ($r = 0.80$; $p < 0.01$) ส่วนความยาวของไข่นั้นมีสหสัมพันธ์กับน้ำหนักฟองไข่น้อยกว่า ($r = 0.72$; $p < 0.01$) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Portillo *et al.* (2004) ที่รายงานว่าความยาวของไข่มีค่าสหสัมพันธ์กับน้ำหนักไข่ในระดับปานกลาง ($r = 0.70$ ถึง 0.78) แสดงให้เห็นว่าเมทไธโอนีนมีผลต่อความกว้างของไข่มากกว่าความยาว

ตารางที่ 8 ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อลักษณะรูปร่างของฟองไข่ในไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์

ลักษณะที่ศึกษา	Basal	DLM	LMA 0.115 %	LMA 0.123 %	LMA 0.133 %	p-value
น้ำหนักไข่ (g)	56.74 ± 3.74 ^B	60.71 ± 3.01 ^A	60.60 ± 2.59 ^A	60.60 ± 2.39 ^A	60.44 ± 3.32 ^A	<0.0001
ความกว้าง (cm)	4.21 ± 0.10 ^B	4.31 ± 0.10 ^A	4.32 ± 0.10 ^A	4.32 ± 0.10 ^A	4.31 ± 0.10 ^A	<0.0001
ความยาว (cm)	5.57 ± 0.21 ^B	5.73 ± 0.10 ^A	5.74 ± 0.10 ^A	5.69 ± 0.10 ^A	5.72 ± 0.21 ^A	<0.0001
พื้นที่ผิว (cm ²)	68.71 ± 3.22 ^B	72.09 ± 2.49 ^A	72.00 ± 2.28 ^A	72.00 ± 2.08 ^A	71.86 ± 2.70 ^A	<0.0001
ดัชนีรูปร่างไข่ (%)	75.71 ± 2.28	75.32 ± 2.39	75.38 ± 1.66	75.82 ± 2.08	75.33 ± 2.29	0.2766

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^A และ ^B ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.01)

6. ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อลักษณะของเปลือกไข่

การเสริมเมทไธโอนีนในอาหารไม่มีอิทธิพลต่อความแตกต่างของน้ำหนักเปลือกต่อพื้นที่ผิว (มิลลิกรัม/เซนติเมตร²) ปริมาตรเปลือกไข่ (เซนติเมตร³) รวมทั้งความหนาแน่นเปลือกไข่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (กรัม/เซนติเมตร³) การเสริมเมทไธโอนีนทำให้น้ำหนักเปลือกไข่มีค่าเพิ่มขึ้น ($p < 0.01$) ขณะที่ความหนาและเปอร์เซ็นต์เปลือกไข่มีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนแต่ความแข็งแรงมีค่าไม่แตกต่างกัน การเสริมเมทไธโอนีนทั้ง 2 แหล่งไม่มีอิทธิพลต่อความแตกต่างลักษณะของเปลือกไข่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังในตารางที่ 9

จากการทดลองพบว่าไข่ที่มีขนาดฟองเล็กจะมีพื้นที่ผิวน้อย และพื้นที่ผิวของฟองไข่ไม่มีสหสัมพันธ์กับความหนาเปลือกไข่ แต่ Curtis *et al.* (1985) รายงานว่าพื้นที่ผิวบนฟองไข่สามารถใช้อธิบายถึงการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของความหนาของเปลือกไข่ได้ ทั้งนี้พื้นที่ผิวบนฟองไข่ที่ลดลงมีผลให้ความหนาของเปลือกไข่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามจากการทดลองของ Tyler and Geake (1953) พบว่าน้ำหนักเปลือกต่อพื้นที่ฟองไข่ (SWUSA) เป็นการประเมินความหนาที่ถูกต้อง ในการทดลองครั้งนี้พบว่า SWUSA มีค่าไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มทดลอง และความหนาเปลือกไข่มีค่าลดลงเมื่อเสริมเมทไธโอนีน โดย SWUSA และความหนาเปลือกไข่มีค่าสหสัมพันธ์เท่ากับ 0.54 ($p < 0.01$) แสดงว่าการใช้ค่า SWUSA สามารถประเมินความหนาได้ถูกต้องมากกว่าการใช้ค่าพื้นที่ผิวในการประเมินความหนา

Romanoff and Romanoff (1949) รายงานว่าลักษณะของไข่ในอุดมคติซึ่งมีน้ำหนักประมาณ 50 กรัม ความกว้าง 4.2 เซนติเมตร ความยาว 5.7 เซนติเมตร มีค่าดัชนีรูปร่างไข่ประมาณ 74 ซึ่งค่าดัชนีรูปร่างไข่ที่ได้จากการทดลองครั้งนี้มีค่าใกล้เคียงกับรายงานที่ผ่านมา Frank *et al.* (1964) ใช้คุณลักษณะของฟองไข่ อันได้แก่ ความหนาเปลือกไข่ ความถ่วงจำเพาะ เปอร์เซ็นต์เปลือก น้ำหนักเปลือก น้ำหนักไข่เพื่ออธิบายความแข็งแรงเปลือกไข่ พบว่ามีสหสัมพันธ์กับความแข็งแรงเปลือกไข่ เมื่อสร้างสมการถดถอย โดยใช้ข้อมูลนำเข้าทั้ง 5 ตัว และผลลัพธ์คือ ความแข็งแรงเปลือกไข่ได้ R^2 ของสมการเท่ากับ 0.78 และจากการทดลองของ Anderson *et al.* (2004) พบว่าไข่ที่มีรูปร่างกลมจะต้านทานต่อแรงที่ทำให้แตกได้มากกว่าไข่ที่มีรูปทรงรี

ค่าปริมาตรเปลือกไข่ได้จากผลคูณของพื้นที่ผิวกับความหนาเปลือกไข่ จากการทดลองครั้งนี้พบค่าสหสัมพันธ์ของความหนาเปลือกไข่กับปริมาตรมีค่าสูงถึง 0.94 ($P < 0.01$) ส่วนพื้นที่ผิวกับปริมาตรมีค่าสหสัมพันธ์เพียง 0.31 ($P < 0.01$) แสดงให้เห็นว่าความหนาเปลือกไข่มีอิทธิพลต่อ

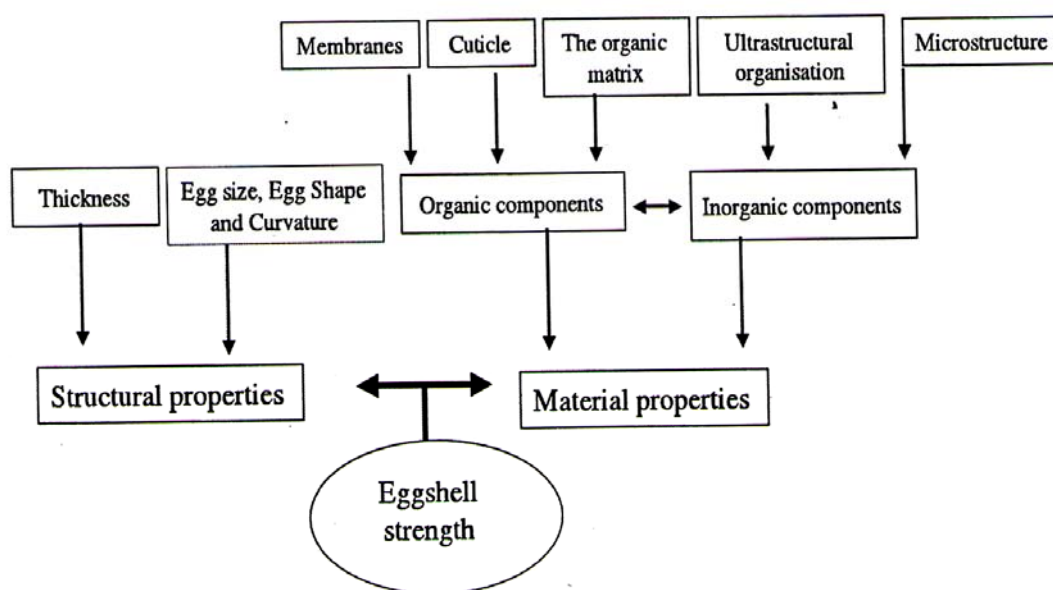
ปริมาตรเปลือกไข่มากกว่าพื้นที่ผิว และเนื่องจากไขที่ไม่เสริมเมทไธโอีนมีความหนาเปลือกไขมากกว่าแต่มีพื้นที่ผิวน้อยกว่าไขที่เสริมเมทไธโอีน จึงน่าจะเป็นสาเหตุให้ปริมาตรของเปลือกไขมีค่าไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามค่าที่ได้นี้ขัดแย้งกับการทดลองของ Rahn *et al.* (1981) ที่พบว่าปริมาตรของเปลือกไขมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามอายุของไก่ ซึ่งเกิดจากน้ำหนักฟองไข่ที่เพิ่มขึ้นตามอายุทำให้มีพื้นที่ผิวมากขึ้นและมีความหนาเปลือกน้อยลง (Romanoff and Romanoff, 1949)

ความหนาแน่นของเปลือกไขเป็นค่าที่ได้จากสัดส่วนของน้ำหนักเปลือกไขกับปริมาตรของเปลือกไข ซึ่งค่าดังกล่าวสามารถใช้บ่งบอกถึงความแข็งแรงของเปลือกไขและความสามารถในการถ่ายเทอากาศของฟองไข่ซึ่งมีความสำคัญในกรณีของไขฟัก (Christensen *et al.*, 1996) จากการทดลองครั้งนี้พบค่าสหสัมพันธ์ของน้ำหนักเปลือกไขกับความหนาแน่นมีค่าเท่ากับ 0.20 ($p < 0.01$) ส่วนปริมาตรเปลือกไขกับความหนาแน่นมีสหสัมพันธ์ที่ผกผันกัน (-0.64 ; $p < 0.01$) แสดงว่าปริมาตรเปลือกไขมีความสัมพันธ์กับความหนาแน่นมากกว่าน้ำหนักเปลือกไข แม้ว่าน้ำหนักเปลือกไขมีความแตกต่างกันในกลุ่มที่เสริมและไม่เสริมเมทไธโอีน แต่ปริมาตรไม่แตกต่างกันและเป็นค่าที่ส่งผลต่อความหนาแน่นมากจึงทำให้ความหนาแน่นเปลือกไขมีค่าไม่แตกต่างกัน

การเสริมเมทไธโอีนทำให้น้ำหนักเปลือกไขมากขึ้น ($p < 0.01$) แต่เมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์กลับมีค่าลดลง ($p < 0.01$) รวมทั้งความหนาเปลือกไขมีค่าลดลงด้วย ($p < 0.05$) ขณะที่ความแข็งแรงเปลือกไขมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ น้ำหนักเปลือกไขที่เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับ Carey *et al.* (1991) ที่รายงานว่าน้ำหนักเปลือกไขเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มระดับเมทไธโอีน แต่เมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์พบว่าเปอร์เซ็นต์และความหนาของเปลือกมีค่าลดลง เนื่องจากการเสริมเมทไธโอีนทำให้น้ำหนักไขมีขนาดใหญ่ขึ้นด้วยเมื่อคิดเป็นสัดส่วนจึงทำให้มีค่าลดลง สำหรับระดับของเมทไธโอีนกับความหนาเปลือกไขนั้น Bunchasak and Silapasorn (2005) รายงานว่าไก่ไข่ที่เลี้ยงในสภาพอากาศร้อนขึ้นเมื่อเสริมเมทไธโอีน 0.30-0.44 % ในอาหารที่มีโปรตีน 14 % ทำให้ความหนาเปลือกไขเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเมทไธโอีนที่ระดับ 0.26 % สอดคล้องกับ Carey *et al.* (1991) ที่รายงานว่า การเพิ่มระดับเมทไธโอีนจาก 330 – 450 มิลลิกรัม/ตัว/วัน ทำให้น้ำหนักเปลือกไขเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามค่าความแข็งแรงของเปลือกไขไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้ปัจจัยที่มีผลต่อความแข็งแรงเปลือกไขมีหลายปัจจัยดังในภาพที่ 9 Bain (2005) รายงานว่ามีหลายปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความแข็งแรงเปลือกไข เช่น material properties ซึ่งได้แก่ organic components และ inorganic components รวมทั้ง structural properties แต่จากการทดลองพบว่า structural properties ได้แก่วความหนาเปลือกไขและขนาดฟองไข่ไม่มีอิทธิพลต่อความแข็งแรงเปลือกไข ดังนั้นความแตกต่างอาจจะเกิดจากอิทธิพลของ material properties มากกว่า

นอกจากนี้ Romanoff and Romanoff (1949) รายงานว่าในไก่ 91 ตัว ให้ไข่จำนวน 3,998 ฟอง มีค่าความแข็งแรงเปลือกไข่แตกต่างกันมากถึง 2.01-6.00 kg

การที่เปอร์เซ็นต์ และความหนาเปลือกไข่มีค่าลดลงเมื่อเสริมเมทไธโอนีนนั้นอาจเกิดจากเมทไธโอนีนไปมีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์เยื่อหุ้มไข่ (Roland, 1988; Novak *et al.*, 2004) รวมทั้งเปลือกไข่ยังประกอบด้วย protein matrix (Fraser *et al.*, 1998) ดังนั้นการเสริมเมทไธโอนีนอาจจะมีผลต่อส่วนประกอบเหล่านี้ หรืออาจเกิดจากโปรตีนที่ได้รับสูงขึ้นจากการกินอาหารที่สูงขึ้นไปลดการดูดกลับของแคลเซียมและฟอสฟอรัสที่ท่อกรวยไตทำให้เกิดภาวะ hypercalciurea เนื่องจากร่างกายต้องขับหมู่ซัลเฟอร์ของกรดอะมิโนออกทางปัสสาวะมากขึ้น (Zemal, 1988)



ภาพที่ 9 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความแข็งแรงเปลือกไข่
ที่มา: Bain (2005)

ตารางที่ 9 ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อต่อลักษณะของเปลือกไข่ในไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์

ลักษณะที่ศึกษา	Basal	DLM	LMA 0.115 %	LMA 0.123 %	LMA 0.133 %	p-value
น้ำหนักเปลือกต่อพื้นที่ผิว (mg/cm ²)	88.81 ± 5.77	87.39 ± 4.75	87.60 ± 5.69	86.32 ± 5.17	87.57 ± 5.51	0.0935
ปริมาตรเปลือกไข่ (cm ³)	3.14 ± 0.34	3.23 ± 0.34	3.22 ± 0.34	3.18 ± 0.34	3.21 ± 0.34	0.6260
ความหนาแน่นเปลือกไข่ (g/cm ³)	1.88 ± 0.08	1.91 ± 0.17	1.91 ± 0.17	1.90 ± 0.17	1.91 ± 0.17	0.8102
น้ำหนักเปลือก (g)	6.08 ± 0.51 ^B	6.31 ± 0.42 ^A	6.32 ± 0.51 ^A	6.23 ± 0.42 ^{AB}	6.31 ± 0.51 ^A	0.0032
เปลือก (%)	10.79 ± 0.68 ^A	10.38 ± 0.51 ^B	10.41 ± 0.68 ^B	10.25 ± 0.59 ^B	10.41 ± 0.68 ^B	<0.0001
ความหนา (mm)	0.47 ± 0.05 ^a	0.46 ± 0.05 ^{ab}	0.45 ± 0.05 ^b	0.45 ± 0.05 ^b	0.46 ± 0.05 ^{ab}	0.0117
ความแข็งแรงด้านข้าง (kg)	3.44 ± 1.07	3.38 ± 0.91	3.13 ± 1.11	3.11 ± 1.13	3.01 ± 1.07	0.2276
ความแข็งแรงด้านป้าน (kg)	3.33 ± 1.22	3.69 ± 0.99	3.33 ± 1.18	3.59 ± 1.02	3.41 ± 1.21	0.4336

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^A และ ^B ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.01)

^a และ ^b ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

7. ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อองค์ประกอบของเปลือกในโกโก้

การเสริมเมทไธโอนีนทำให้น้ำหนักเปลือกมีค่ามากกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เปอร์เซ็นต์เด้า แคลเซียม ฟอสฟอรัสไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) ปริมาณแคลเซียมในเปลือกของกลุ่มที่เสริมมีค่ามากกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ปริมาณฟอสฟอรัสในเปลือกกลุ่มที่เสริมมีค่าไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ไม่เสริม ประสิทธิภาพการเปลี่ยนแคลเซียมให้เป็นแคลเซียมในเปลือก (%) มีค่ามากกว่ากลุ่มที่ไม่เสริม ($p < 0.01$) และประสิทธิภาพการเปลี่ยนฟอสฟอรัสให้เป็นฟอสฟอรัสในเปลือก (%) มีค่ามากกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังในตารางที่ 10

การเสริมเมทไธโอนีนทำให้เปอร์เซ็นต์เด้า แคลเซียม ฟอสฟอรัสในเปลือกไม่แตกต่างกัน แต่ปริมาณแคลเซียมในเปลือกมีค่ามากกว่าในกลุ่มที่ไม่เสริม เนื่องจากโกโก้ได้รับแคลเซียมมากขึ้น และเปลือกไข่มีขนาดใหญ่ขึ้น โดยปริมาณแคลเซียมที่กินกับแคลเซียมในเปลือกมีค่าสหสัมพันธ์เท่ากับ 0.6852 ($p < 0.01$)

ในการทดลองครั้งนี้พบว่า การเสริมเมทไธโอนีนทำให้ประสิทธิภาพการเปลี่ยนแคลเซียม และฟอสฟอรัสให้เป็นแคลเซียมและฟอสฟอรัสในเปลือกมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งอาจเกิดจากการเสริมเมทไธโอนีนทำให้มีการให้ผลผลิตมากขึ้นและมีการใช้ประโยชน์ของแร่ธาตุมากขึ้น สอดคล้องกับ Lim and Paik (2006) ได้ทดลองเสริม Cu ในรูปต่างๆ คือ Cu-met Cu-chitosan และ Cu-yeast ในโกโก้อายุ 84 สัปดาห์พบว่า การใช้ Cu-met ทำให้ผลผลิตและน้ำหนักไข่เพิ่มขึ้น รวมทั้งลดปัญหาไข่เปลือกน้มนวล อย่างไรก็ตามการสะสมแร่ธาตุมีความแตกต่างกันในสัตว์ชนิดต่างๆ โดย มีการให้ Zn - methionine เปรียบเทียบกับ inorganic Zn ในสุกรและในวัวพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน แต่พบว่าการสะสม Zn เพิ่มขึ้นในลูกแกะ โดยมีการขับออกของ Zn ในปัสสาวะน้อยลง (Swinkels *et al.*, 1994)

ตารางที่ 10 ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อองค์ประกอบของเปลือกไข่ในไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์

ลักษณะที่ศึกษา	Basal	DLM	LMA 0.115 %	LMA 0.123 %	LMA 0.133 %	p-value
น้ำหนักเปลือก (g)	5.98 ± 0.63 ^b	6.49 ± 0.34 ^a	6.32 ± 0.59 ^{ab}	6.08 ± 0.47 ^{ab}	6.28 ± 0.55 ^{ab}	0.0160
เถ้า (%)	93.38 ± 0.63	93.60 ± 0.81	93.45 ± 0.81	93.21 ± 0.55	93.34 ± 0.76	0.5337
แคลเซียม (%)	36.49 ± 0.42	36.71 ± 0.47	36.88 ± 0.42	36.82 ± 0.47	36.72 ± 0.42	0.1908
แคลเซียม (g/egg)	2.18 ± 0.21 ^b	2.38 ± 0.08 ^a	2.33 ± 0.25 ^{ab}	2.24 ± 0.17 ^{ab}	2.30 ± 0.21 ^{ab}	0.0112
ประสิทธิภาพการเปลี่ยนแคลเซียม						
ให้เป็นแคลเซียมในเปลือก (%)	44.65 ± 3.50 ^B	51.73 ± 3.34 ^A	51.13 ± 2.97 ^A	49.76 ± 2.66 ^A	51.61 ± 2.23 ^A	0.0013
ฟอสฟอรัส (%)	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.11 ± 0.01	0.8040
ฟอสฟอรัส (mg/egg)	6.67 ± 1.21	7.14 ± 1.48	7.25 ± 1.10	6.85 ± 1.34	6.86 ± 0.79	0.4596
ประสิทธิภาพการเปลี่ยนฟอสฟอรัส						
ให้เป็นฟอสฟอรัสในเปลือก (%)	0.76 ± 0.10 ^b	0.87 ± 0.13 ^{ab}	0.89 ± 0.05 ^a	0.85 ± 0.10 ^{ab}	0.86 ± 0.08 ^{ab}	0.0298

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{A และ B} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)

^{a และ b} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

การคำนวณประสิทธิภาพการเปลี่ยนแคลเซียมและฟอสฟอรัสให้เป็นแคลเซียมและฟอสฟอรัสในเปลือก (%) อยู่ในภาคผนวก

8. ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อองค์ประกอบของกระดูก

น้ำหนักกระดูกในรูปน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และน้ำหนักแห้งหลังสกัดไขมัน มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกลุ่มที่เสริมและไม่เสริมเมทไธโอนีน ($p>0.05$) แต่เปอร์เซ็นต์ไขมันในกระดูกและเมื่อคิดเป็นน้ำหนักไขมันในกระดูกในกลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีนมากกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เปอร์เซ็นต์เถ้า แคลเซียม ฟอสฟอรัส และปริมาณแคลเซียม ฟอสฟอรัสมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกลุ่มที่เสริมและไม่เสริมเมทไธโอนีน ($p>0.05$) ดังตารางที่ 11

น้ำหนักแคลเซียมในกระดูกที่ไม่แตกต่างกันนั้นอาจจะเป็นผลอันเนื่องมาจากกระดูก tibia เป็น กระดูกเมดูลลารี ซึ่งเป็นแหล่งแร่ธาตุแคลเซียมในการสร้างเปลือกไข่ แต่เนื่องจากไก่ในกลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนมีการผลิตไข่น้อยและมีน้ำหนักน้อย จึงใช้แคลเซียมสร้างเปลือกน้อย ส่วนไก่ที่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีนมีการผลิตไข่มากและน้ำหนักไข่มากแต่มีการกินอาหารมากขึ้นจึงได้รับแคลเซียมมากขึ้น โดยปริมาณแคลเซียมที่กินกับแคลเซียมในเปลือกมีสหสัมพันธ์เท่ากับ 0.69 ($p<0.01$) ดังนั้นร่างกายจึงไม่ต้องดึงแคลเซียมออกจากกระดูกมาใช้ในการสร้างเปลือกทำให้น้ำหนักแคลเซียมในกระดูกไม่แตกต่างกัน ปริมาณแร่ธาตุในกระดูกที่ไม่ลดลงสอดคล้องกับการทดลองของ Predieri *et al.* (2005) โดยให้อาหารซึ่งขาด Zn เป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่า ในตับ ม้าม และไต มี Zn ลดลง แต่ไม่ลดลงในกระดูก สามารถอธิบายได้ว่า การลดลงของ Zn ในกระดูกจะมีอัตราที่ช้ากว่าในเนื้อเยื่ออื่น ซึ่งน่าจะเป็นไปในทำนองเดียวกันกับการลดลงของแคลเซียมในกระดูก

ไขมันในกระดูกที่แตกต่างกันอาจจะมีสาเหตุมาจากเมทไธโอนีนทำให้มีการสังเคราะห์กรดไขมันมากขึ้นจึงส่งผลให้กระดูกมีไขมันมากขึ้น หรืออาจเกิดจากการสังเคราะห์ไขมันในกระดูกเพิ่มขึ้นโดยจากการทดลองของ Schuster *et al.* (1975) พบว่า เซลล์กระดูกสามารถใช้ acetate ในการสังเคราะห์ไขมันได้หลายชนิด และการเติมสารที่เป็นตัวต้านการใช้ประโยชน์เมทไธโอนีน คือ ethionine มีผลทำให้การเจริญเติบโตของกระดูกลดลง สูญเสียน้ำหนัก สูญเสียไขมันได้ผิวหนังในหนูทดลอง (Klavins *et al.*, 1959) โดยที่ ethionine จะไปรบกวนการสังเคราะห์ไขมัน (Farber *et al.*, 1950) แสดงให้เห็นว่าเมทไธโอนีนมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการสร้างไขกระดูก

ตารางที่ 11 ผลของการเสริมเมทิล โอนีนต่อองค์ประกอบของกระดูก tibia ในไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์

ลักษณะที่ศึกษา	Basal	DLM	LMA 0.115 %	LMA 0.123 %	LMA 0.133 %	p-value
น้ำหนักสด (g)	9.79 ± 0.79	9.67 ± 0.65	9.84 ± 0.59	9.96 ± 0.82	10.28 ± 0.93	0.4048
น้ำหนักแห้ง (g)	7.09 ± 1.22	6.76 ± 0.59	6.93 ± 0.45	7.28 ± 0.74	7.33 ± 0.85	0.4853
น้ำหนักแห้งหลังสกัดไขมัน (g)	5.70 ± 0.93	5.39 ± 0.45	5.61 ± 0.40	5.47 ± 0.68	5.79 ± 0.71	0.6736
ไขมันในกระดูก (%)	19.44 ± 2.97 ^b	20.21 ± 2.69 ^{ab}	19.05 ± 1.44 ^b	24.77 ± 5.15 ^a	20.91 ± 2.91 ^{ab}	0.0156
ไขมันในกระดูก (g)	1.38 ± 0.34 ^{ab}	1.36 ± 0.22 ^b	1.32 ± 0.11 ^b	1.81 ± 0.42 ^a	1.53 ± 0.28 ^{ab}	0.0198
เถ้า (%)	56.65 ± 3.73	53.38 ± 3.73	53.18 ± 4.29	55.31 ± 3.79	54.35 ± 1.67	0.3577
แคลเซียม (%)	20.89 ± 1.10	20.14 ± 1.22	20.15 ± 1.16	20.53 ± 1.47	20.31 ± 0.71	0.7165
แคลเซียม (g)	1.19 ± 0.19	1.09 ± 0.14	1.13 ± 0.08	1.12 ± 0.08	1.18 ± 0.14	0.4939
ฟอสฟอรัส (%)	9.11 ± 0.96	8.80 ± 0.54	8.67 ± 0.56	8.97 ± 0.76	8.94 ± 0.34	0.7739
ฟอสฟอรัส (g)	0.52 ± 0.08	0.47 ± 0.06	0.48 ± 0.03	0.49 ± 0.03	0.52 ± 0.06	0.4777

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^a และ ^b ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

9. ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อองค์ประกอบของมูลไก่ไข่

การเสริมเมทไธโอนีนในอาหารทำให้การขับออกน้ำหนักรีดของมูล น้ำหนักแห้งของมูล และปริมาณน้ำในมูลเพิ่มมากกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) การเสริมเมทไธโอนีนทั้ง 2 แหล่งให้ผลไม่แตกต่างกัน แต่ในกลุ่มที่เสริม LMA 0.123 % มีค่าไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีน ดังตารางที่ 12

การที่ไก่กินอาหารและน้ำมากขึ้น ทำให้ไก่ต้องขับมูลและน้ำออกในปริมาณที่มากขึ้น แต่เป็นที่น่าสังเกตว่า ในกลุ่มที่เสริม LMA 0.123 % มีการกินอาหารและน้ำต่ำกว่ากลุ่มอื่นที่เสริมเมทไธโอนีนด้วยกัน จึงทำให้มีการขับออกของมูลและน้ำน้อยกว่ากลุ่มอื่นที่เสริมเมทไธโอนีน โดยอาจเกิดจากการเสริม LMA 0.123 % ทำให้มีการใช้ประโยชน์ได้ของกรดอะมิโนสูงสุดตรงกับความต้องการ สามารถให้ผลผลิตได้สูงสุดในขณะเดียวกันก็เหลือส่วนที่ขับออกในมูลน้อย

การให้เมทไธโอนีนในระดับที่สูงขึ้น ทำให้มีการขับเมทไธโอนีนสูงขึ้นในไก่ไข่ (Zhang *et al.*, 1993) การทำให้กรดอะมิโนสมดุลในอาหารโปรตีนต่ำ ทำให้เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนในมูลน้อยลงและไม่เกิดผลเสียต่อผลผลิตไข่ ซึ่งจะมีผลดีในการควบคุมปริมาณโภชนาในมูลโดยการจัดการอาหาร (Sloan and Harms, 1995) จากการทดลองครั้งนี้พบว่า การให้เมทไธโอนีนที่สูงหรือต่ำเกินไปก็จะทำให้มีการขับออกของมูลมากขึ้น ดังนั้นจึงต้องหาระดับการให้เมทไธโอนีนที่เหมาะสม โดยจากการทดลองเสริม LMA 0.123 % ทำให้มีการขับออกของมูลน้อยจึงน่าจะเป็นระดับที่เหมาะสมที่สุด

ตารางที่ 12 ผลของการเสริมเมทิล โอนีนต่อองค์ประกอบของมูลไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์

ลักษณะที่ศึกษา	Basal	DLM	LMA 0.115 %	LMA 0.123 %	LMA 0.133 %	p-value
น้ำหนักสด (g)	94.20 ± 15.55 ^B	106.52 ± 17.70 ^A	108.09 ± 15.47 ^A	97.33 ± 10.63 ^B	105.32 ± 13.09 ^A	<0.0001
น้ำหนักแห้ง (%)	28.19 ± 2.30 ^A	27.17 ± 2.22 ^{BC}	26.60 ± 1.35 ^C	27.78 ± 1.83 ^{AB}	28.13 ± 1.43 ^A	<0.0001
น้ำในมูล (%)	71.81 ± 2.30 ^C	72.82 ± 2.22 ^{AB}	73.39 ± 1.35 ^A	72.21 ± 1.83 ^{BC}	71.86 ± 1.43 ^C	<0.0001
น้ำหนักแห้ง (g)	26.50 ± 4.52 ^B	28.81 ± 4.68 ^A	28.69 ± 3.89 ^A	27.05 ± 3.57 ^B	29.64 ± 4.13 ^A	<0.0001
น้ำในมูล (g)	67.70 ± 11.74 ^B	77.72 ± 13.81 ^A	79.41 ± 11.98 ^A	70.28 ± 7.78 ^B	75.67 ± 9.36 ^A	<0.0001

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^{A B และ C} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.01)

10. ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อการสะสมแร่ธาตุในร่างกาย

ปริมาณแคลเซียมและฟอสฟอรัสที่กิน ปริมาณแคลเซียมและฟอสฟอรัสที่ขับออกในกลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีนมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริมอย่างมีนัยสำคัญ การเสริมเมทไธโอนีนทำให้การขับออกของ % เถ้า % แคลเซียมและ % ฟอสฟอรัสในมูลไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีน การเสริมเมทไธโอนีนทำให้การสะสมแคลเซียมและฟอสฟอรัสในร่างกายมีค่าไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ไม่เสริมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบแหล่งของกรดอะมิโนทั้ง 2 แหล่ง พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังในตารางที่ 13

Block *et al.* (1980) รายงานว่าการกินอาหารโปรตีนและกรดอะมิโน ทำให้มีการขับออกของแคลเซียมในปัสสาวะสูงขึ้น อันมีสาเหตุจากการกรองแคลเซียมซึ่งถูกดูดซึมกลับโดยไตมีอัตราลดลง การกินโปรตีนสูงทำให้เพิ่มการขับแคลเซียมในปัสสาวะสูงขึ้น 176 % เมื่อเปรียบเทียบกับ การเสริม sulfur amino acid (SAA) ในอาหารโปรตีนนั้นทำให้มีการขับออกแคลเซียมสูงขึ้นเพียง 29 % และสอดคล้องกับ Hegsted *et al.* (1979) และ Lemann *et al.* (1959) ที่พบว่าการเสริม SAA ทำให้มีการขับแคลเซียมในปัสสาวะเพิ่มขึ้น ดังนั้นการได้รับโปรตีนและเมทไธโอนีนสูงขึ้นในการทดลองครั้งนี้จึงทำให้มีการขับออกของแคลเซียมและฟอสฟอรัสมากขึ้น อย่างไรก็ตาม Margen *et al.* (1974) พบว่าไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างแคลเซียมในปัสสาวะและ SAA ในคน

จากผลการทดลองพบว่าการเสริมเมทไธโอนีนในอาหารไก่ไข่ทำให้การสะสมของแคลเซียมและฟอสฟอรัสไม่แตกต่างกันซึ่งการเสริมเมทไธโอนีนอาจทำให้เกิดการสร้างพันธะเคมีกับแคลเซียมภายในร่างกายเป็นเกลือได้ แต่ Champagne and Phillippy (1989) รายงานว่าจากการศึกษาในห้องปฏิบัติการพบว่า pH ที่สูงจะทำให้เกิดการฟอร์มตัวของ calcium – zinc phytate complexes ที่ละลายไม่ได้ในอาหารจากถั่วเหลือง ทั้งนี้ Lenz and Martell (1964) รายงานว่าจากการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่าไม่มีการจับตัวเป็น chelate ระหว่าง ligand กับ alkaline earth ดังนั้นการสะสมของแร่ธาตุจึงอาจขึ้นอยู่กับสถานะของร่างกายด้วย ถ้าภายในลำไส้มีสถานะที่ความเป็นกรด ค่าที่ไม่เหมาะสม หรืออาจมีสารที่มาขัดขวางการดูดซึมก็อาจทำให้การดูดซึมแร่ธาตุและนำไปสะสมได้ไม่ดี ซึ่งจากการทดลองที่พบว่าการเสริมเมทไธโอนีนทำให้ค่าความเป็นกรดต่างในระบบทางเดินอาหารไม่แตกต่างกัน (จะอธิบายในหัวข้อผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อค่าความเป็นกรด ค่าในระบบทางเดินอาหาร) จึงทำให้การสะสมแร่ธาตุในร่างกายไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 13 ผลของการเสริมเมทิลโฮนีนต่อการสะสมแร่ธาตุในร่างกายในไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์

ลักษณะที่ศึกษา	Basal	DLM	LMA 0.115 %	LMA 0.123 %	LMA 0.133 %	p-value
เถ้าในมูล (%)	26.59 ± 1.51	28.34 ± 2.01	26.98 ± 2.47	27.02 ± 3.53	26.7 ± 3.48	0.9294
แคลเซียมในมูล (%)	7.34 ± 0.66	7.13 ± 0.28	7.26 ± 1.00	7.43 ± 1.16	6.87 ± 0.55	0.9261
ฟอสฟอรัส ในมูล (%)	1.83 ± 0.07	1.85 ± 0.07	1.89 ± 0.05	1.83 ± 0.07	1.85 ± 0.05	0.8762
แคลเซียมที่กิน (g)	3.79 ± 0.16 ^B	4.26 ± 0.14 ^A	4.25 ± 0.12 ^A	4.20 ± 0.14 ^A	4.25 ± 0.14 ^A	<0.0001
แคลเซียมในมูล (g)	1.95 ± 0.09 ^b	2.05 ± 0.07 ^{ab}	2.08 ± 0.07 ^a	2.02 ± 0.09 ^{ab}	2.04 ± 0.07 ^{ab}	0.0449
แคลเซียมที่สะสม (%)	50.81 ± 4.29	52.68 ± 2.55	51.07 ± 6.43	52.31 ± 8.50	53.01 ± 5.07	0.9710
ฟอสฟอรัสที่กิน (g)	0.67 ± 0.02 ^B	0.76 ± 0.02 ^A	0.76 ± 0.02 ^A	0.75 ± 0.02 ^A	0.76 ± 0.02 ^A	<0.0001
ฟอสฟอรัสในมูล (g)	0.48 ± 0.02 ^B	0.53 ± 0.02 ^A	0.54 ± 0.02 ^A	0.49 ± 0.02 ^B	0.55 ± 0.02 ^A	<0.0001
ฟอสฟอรัสที่สะสม (%)	30.81 ± 6.79	31.22 ± 3.15	28.25 ± 5.92	34.23 ± 1.75	28.93 ± 5.42	0.5875

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^A และ ^B ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)

^a และ ^b ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

การคำนวณแคลเซียมและฟอสฟอรัสที่สะสม (%) อยู่ในภาคผนวก

11. ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อน้ำหนักและความยาวของอวัยวะภายในระบบทางเดินอาหาร

การเสริมเมทไธโอนีนในอาหารทำให้น้ำหนักและความยาวของอวัยวะภายในระบบทางเดินอาหารในไก่ไข่ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 14 และ 15

อาหารที่ขาดสมดุลของกรดอะมิโนมีผลทำให้น้ำหนักของตับอ่อนและกระเพาะปัสสาวะสูงขึ้น (Harry *et al.*, 2002) เช่นเดียวกับ Magro (1999) รายงานว่าไก่ที่กินอาหารที่มีคุณภาพดี มีผลทำให้ขนาดของกระเพาะปัสสาวะเล็กลงและลำไส้มีการขยายเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม Iji *et al.* (2001) และ Tan *et al.* (1999) รายงานว่า การกินอาหารที่ขาดความสมดุลไม่มีผลต่อน้ำหนักอวัยวะภายใน เนื่องจากอวัยวะภายในของสัตว์มีการพัฒนาตั้งแต่ช่วงระยะแรก ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ พบว่าไก่มีน้ำหนักอวัยวะภายในไม่แตกต่างกัน อาจเกิดจากไก่ที่ทดลองอยู่ในระยะที่เลววัยเจริญเติบโตแล้ว และมีการพัฒนาอวัยวะภายในจนเสร็จสมบูรณ์แล้ว แสดงว่าอาหารจึงอาจจะไม่มีผลต่อน้ำหนักของอวัยวะภายในแม้ให้อาหารในกลุ่มทดลองที่มีกรดอะมิโนไม่สมดุลก็ตาม

ตารางที่ 14 ผลของการเสริมเมทิล โอนีนต่อน้ำหนักอวัยวะภายในระบบทางเดินอาหารของไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์

ลักษณะที่ศึกษา	Basal	DLM	LMA 0.115 %	LMA 0.123 %	LMA 0.133 %	p-value
หัวใจ (g)	7.19 ± 1.38	7.15 ± 1.49	6.96 ± 1.05	7.90 ± 1.10	7.31 ± 2.18	0.7680
กระเพาะพัก (g)	5.39 ± 0.91	4.93 ± 1.22	4.84 ± 0.45	4.84 ± 0.68	5.20 ± 1.16	0.7342
กระเพาะแท้ (g)	5.44 ± 0.99	5.55 ± 1.07	5.43 ± 0.91	5.99 ± 0.88	6.28 ± 1.50	0.3211
กระเพาะบด (g)	18.56 ± 2.18	18.67 ± 2.88	18.15 ± 1.61	18.81 ± 2.38	18.39 ± 1.61	0.9225
ลำไส้เล็กส่วนต้น (g)	7.40 ± 1.75	8.36 ± 2.09	8.44 ± 1.67	7.41 ± 1.67	8.31 ± 2.03	0.3398
ลำไส้เล็กส่วนกลาง (g)	11.61 ± 2.03	11.36 ± 1.78	11.20 ± 1.27	11.04 ± 2.15	9.86 ± 1.50	0.3409
ลำไส้เล็กส่วนปลาย (g)	8.01 ± 2.06	7.87 ± 1.44	8.31 ± 1.58	8.79 ± 1.33	7.51 ± 1.35	0.4748
ลำไส้ใหญ่ (g)	3.93 ± 0.79	3.97 ± 2.60	3.54 ± 0.51	3.24 ± 0.65	3.24 ± 0.73	0.6732

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานในแถวเดียวกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 15 ผลของการเสริมเมทิลโฮนินต่อความยาวอวัยวะภายในระบบทางเดินอาหารในไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์

ลักษณะที่ศึกษา	Basal	DLM	LMA 0.115 %	LMA 0.123 %	LMA 0.133 %	p-value
กระเพาะพัก (cm)	4.28 ± 1.04	4.21 ± 0.59	4.00 ± 0.68	4.06 ± 0.56	4.37 ± 0.79	0.8271
กระเพาะแท้ (cm)	3.93 ± 0.37	4.21 ± 0.42	3.79 ± 0.42	3.62 ± 0.34	3.88 ± 0.65	0.2029
กระเพาะบด (cm)	4.79 ± 0.82	5.14 ± 0.51	4.93 ± 0.19	5.44 ± 0.62	5.19 ± 0.36	0.1324
ลำไส้เล็กส่วนต้น (cm)	21.64 ± 4.58	24.00 ± 2.86	23.57 ± 3.14	23.88 ± 1.67	23.88 ± 1.67	0.5248
ลำไส้เล็กส่วนกลาง (cm)	46.86 ± 4.07	51.07 ± 5.12	48.07 ± 5.88	49.50 ± 5.46	48.44 ± 7.58	0.6486
ลำไส้เล็กส่วนปลาย (cm)	43.86 ± 8.54	49.00 ± 6.02	45.64 ± 6.42	48.88 ± 6.05	42.19 ± 5.09	0.1917
ไส้ติ่ง (cm)	12.18 ± 2.66	11.50 ± 1.13	13.15 ± 2.40	13.38 ± 1.92	12.44 ± 1.13	0.3658
ลำไส้ใหญ่ (cm)	7.57 ± 1.24	7.14 ± 0.85	6.43 ± 0.37	6.25 ± 1.56	6.94 ± 0.76	0.1689

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานในแถวเดียวกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

12. ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อค่าความเป็นกรดต่างของอาหารในระบบทางเดินอาหาร

ความเป็นกรด-ด่างในอาหารที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนและอาหารที่เสริมเมทไธโอนีน ความเป็นกรดต่างในระบบทางเดินอาหาร และมูลมีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ยกเว้นที่ลำไส้เล็กส่วนต้น ซึ่งพบว่ากลุ่มที่กินอาหารเสริม DLM มีความเป็นกรดมากกว่าทุกกลุ่ม และกลุ่มที่กินอาหารเสริม LMA มีค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้นตามกลุ่มที่เสริม LMA เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ดังในตารางที่ 16

การเสริมเมทไธโอนีนไม่ทำให้ pH ในอาหารเปลี่ยนแปลง แต่ Atapattu and Nelligaswatta (2005) รายงานว่า การเสริมกรดซิตริกในอาหารทำให้ pH ในอาหารลดลง ซึ่งมีประโยชน์ในการป้องกันการปนเปื้อนของแบคทีเรียในอาหารและช่วยลดค่า Buffering capacity ในอาหารลง โดย Mroz *et al.* (1997) รายงานว่า การเสริม LMA ในอาหารสุกร 0.2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ค่า Buffering capacity ลดลงเฉลี่ย 6-7 เปอร์เซ็นต์ และสภาพที่เป็นกรดอ่อนๆ ทำให้การใช้ประโยชน์ได้ของอาหารมีประสิทธิภาพมากขึ้น (เสกสม, 2547) ซึ่งอาจเกิดจากในสูตรอาหารมีปริมาณแคลเซียมสูง จึงอาจเป็นตัวช่วยปรับค่า pH

จากการเสริมเมทไธโอนีนในอาหารไม่มีผลต่อระดับ pH ในระบบทางเดินอาหารส่วนใหญ่ (กระเพาะพักกระเพาะแท้ กระเพาะบด ลำไส้เล็กส่วนกลาง ส่วนปลาย) และมูล อาจเป็นเพราะสัตว์จะรักษาสมดุลของกรด-ด่าง เพื่อให้ร่างกายสามารถทำงานได้ปกติ ซึ่งระดับ pH ในลำไส้เล็กถูกควบคุมด้วยน้ำย่อยจากตับอ่อนที่หลั่งออกมาที่ลำไส้ส่วนต้น เพื่อปรับสภาพอาหารที่เป็นกรดจากกระเพาะให้เป็นกลาง (Van Kol and Franklin, 2006) สอดคล้องกับ Ribeiro *et al.* (2005) ที่รายงานว่า แหล่งและระดับของเมทไธโอนีนที่แตกต่างกันไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ pH ในลำไส้เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เช่นเดียวกับ Straw *et al.* (1991) รายงานว่า ความเป็นกรดของอาหารในกระเพาะและลำไส้ไม่เปลี่ยนแปลง แม้ได้กินอาหารที่เป็นกรด อย่างไรก็ตาม Andrys *et al.* (2003) รายงานว่าการเสริมกรดอินทรีย์ในอาหารไก่กระທง ทำให้ pH ของอาหารในกระเพาะพักและกระเพาะบดต่ำกว่ากลุ่มควบคุม เช่นเดียวกับ Thompson and Hinten (1997) รายงานว่าไก่แม่พันธุ์ที่กินอาหารเสริมกรดฟอรั่มิกและโปรปิโอนิก มี pH ในกระเพาะพักลดลงมากกว่าระบบทางเดินอาหารส่วนล่าง

ขณะที่มีรายงานของ Richardson *et al.* (1976) พบว่า กรดอะมิโนสามารถกระตุ้นการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารได้ดีกว่ากลูโคสและไขมัน โดยกรดอะมิโนจะกระตุ้นการหลั่งกรดที่บริเวณ oxyntic gland area (Cieszkowski *et al.*, 1975) จากการทดลองของเชาวิทย์ (2548) และในการทดลองครั้งนี้พบว่า กรดอะมิโนที่สูงขึ้นไม่ทำให้ ความเป็นกรดต่างในมูลเพิ่มขึ้น ซึ่งในการทดลองของเชาวิทย์ (2548) พบว่า การเพิ่มระดับโปรตีนทำให้ความเป็นกรดในมูลเพิ่มขึ้น จึงอาจสรุปได้ว่าการเพิ่มระดับกรดอะมิโนเพียงตัวเดียว ไม่มีผลต่อการเพิ่มการหลั่งกรดเท่ากับการเพิ่มระดับโปรตีน ซึ่งเป็นการเพิ่มระดับกรดอะมิโนทั้งหมด ดังนั้นการที่เสริมเมทไธโอนีนในอาหารไม่มีผลต่อระดับ pH ในระบบทางเดินอาหารส่วนใหญ่จึงอาจจะทำให้การดูดซึมแคลเซียมไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 16 ผลของการเสริมเมทิลโฮโมนีนต่อค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหาร ระบบทางเดินอาหาร และมูลของไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์

ลักษณะที่ศึกษา	Basal	DLM	LMA 0.115 %	LMA 0.123 %	LMA 0.133 %	p-value
อาหาร	5.90 ± 0.31	5.81 ± 0.21	5.76 ± 0.17	5.75 ± 0.12	5.71 ± 0.03	0.2240
กระเพาะพัก	4.84 ± 0.23	4.86 ± 0.39	4.85 ± 0.37	4.93 ± 0.25	4.67 ± 0.34	0.5557
กระเพาะแท้	4.32 ± 1.81	4.25 ± 1.47	4.13 ± 0.51	4.13 ± 0.91	4.15 ± 0.54	0.8664
กระเพาะบด	4.35 ± 0.39	4.61 ± 0.39	4.34 ± 0.31	4.39 ± 0.59	4.28 ± 0.42	0.4283
ลำไส้เล็กส่วนต้น	6.33 ± 0.14 ^a	6.13 ± 0.20 ^b	6.34 ± 0.14 ^a	6.23 ± 0.16 ^{ab}	6.19 ± 0.11 ^{ab}	0.0217
ลำไส้เล็กส่วนกลาง	6.26 ± 0.16	6.38 ± 0.62	6.25 ± 0.28	6.25 ± 0.11	6.15 ± 0.25	0.7180
ลำไส้เล็กส่วนปลาย	6.46 ± 0.71	6.75 ± 0.74	6.62 ± 0.79	6.34 ± 0.34	6.31 ± 0.79	0.6616
มูล	6.88 ± 0.57	6.99 ± 0.05	6.73 ± 0.29	7.09 ± 0.17	6.67 ± 0.68	0.7823

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^a และ ^b ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

13. ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อท่อนำไข่

ไก่ไข่กลุ่มที่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีนและแหล่งของเมทไธโอนีนทำให้น้ำหนักและขนาดท่อนำไข่ทั้งหมด และท่อนำไข่แต่ละส่วน ได้แก่ อินฟินติบูลัม แมกนัม อีสมัท ยูเทอร์ัส วาจิना ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังในตารางที่ 17 และ 18

การพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์ต้องการทั้งโปรตีนและพลังงาน จากการทดลองของ Bunchasak and Silpasorn (2005) พบว่าในอาหารที่ขาดเมทไธโอนีนทำให้ความยาวและน้ำหนักของท่อนำไข่น้อยกว่าในกลุ่มที่ได้รับเมทไธโอนีนสูงกว่าในไก่อายุ 24-44 สัปดาห์ แต่อย่างไรก็ตามจากการทดลองของ Hiramoto *et al.* (1990) พบว่าในไก่อายุ 10 เดือน เมื่อได้รับอาหารที่ขาดเมทไธโอนีนทำให้น้ำหนักของท่อนำไข่ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่เสริมเมทไธโอนีน ดังนั้นการที่น้ำหนักและขนาดของท่อนำไข่ในการทดลองครั้งนี้ไม่แตกต่างกันอาจสรุปได้ว่าไก่ที่ใช้ทดลองเป็นไก่ที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้ว (อายุไก่เริ่มทดลอง 34 สัปดาห์) เมทไธโอนีนจึงไม่มีผลต่อการพัฒนาของท่อนำไข่ซึ่งได้มีการพัฒนาไปแล้วตั้งแต่ช่วงแรก

ตารางที่ 17 ผลของการเสริมเมทิลโฮนินต่อท่อน้ำไขในไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์

ลักษณะที่ศึกษา	Basal	DLM	LMA 0.115 %	LMA 0.123 %	LMA 0.133 %	p-value
ท่อน้ำไข (g)	59.67 ± 7.47	58.65 ± 4.75	62.19 ± 6.33	62.15 ± 7.32	60.34 ± 6.05	0.6841
อินฟันติบูลัม (g)	2.86 ± 1.07	2.99 ± 0.93	2.87 ± 1.07	2.41 ± 0.34	2.24 ± 0.54	0.2525
แมกนัม (g)	25.63 ± 3.87	25.98 ± 4.61	25.80 ± 4.55	26.29 ± 4.64	26.01 ± 2.46	0.9984
อิสมัท (g)	4.61 ± 0.71	5.16 ± 0.59	4.90 ± 0.91	5.24 ± 0.88	4.61 ± 0.96	0.4048
ยูเทอริส (g)	19.14 ± 2.35	19.80 ± 1.75	21.22 ± 2.80	21.00 ± 3.20	19.05 ± 3.28	0.2933
วาจิना (g)	7.33 ± 3.65	6.76 ± 2.35	6.63 ± 2.49	7.34 ± 2.15	6.28 ± 1.90	0.8088
ท่อน้ำไขต่อน้ำหนักตัว (%)	3.23 ± 0.59	3.01 ± 0.45	3.30 ± 0.48	3.17 ± 0.42	2.94 ± 0.28	0.2929
อินฟันติบูลัมต่อน้ำหนักรตัว (%)	0.15 ± 0.06	0.15 ± 0.03	0.15 ± 0.06	0.12 ± 0.03	0.10 ± 0.03	0.1387
แมกนัมต่อน้ำหนักรตัว (%)	1.38 ± 0.25	1.33 ± 0.31	1.38 ± 0.31	1.34 ± 0.23	1.27 ± 0.14	0.8708
อิสมัทต่อน้ำหนักรตัว (%)	0.25 ± 0.06	0.26 ± 0.03	0.25 ± 0.03	0.26 ± 0.03	0.22 ± 0.03	0.2210
ยูเทอริสต่อน้ำหนักรตัว (%)	1.04 ± 0.25	1.01 ± 0.17	1.12 ± 0.17	1.08 ± 0.23	0.92 ± 0.14	0.1261
วาจินาต่อน้ำหนักรตัว (%)	0.38 ± 0.14	0.34 ± 0.11	0.34 ± 0.08	0.36 ± 0.06	0.30 ± 0.08	0.6094

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานในแถวเดียวกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 18 ผลของการเสริมเมทิลโฮนินต่อขนาดของท่อนำไข่ในไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์

ลักษณะที่ศึกษา	Basal	DLM	LMA 0.115 %	LMA 0.123 %	LMA 0.133 %	p-value
ความยาวท่อนำไข่ (cm)	70.64 ± 4.80	71.32 ± 5.43	71.19 ± 5.51	75.57 ± 5.74	73.06 ± 3.93	0.2886
ความยาวอินฟินติบูลัม (cm)	12.27 ± 1.50	11.56 ± 2.60	12.56 ± 2.09	12.46 ± 1.98	11.88 ± 1.50	0.8109
ความกว้างอินฟินติบูลัม (cm)	1.20 ± 0.25	1.15 ± 0.25	1.28 ± 0.37	1.20 ± 0.25	1.02 ± 0.08	0.2208
ความยาวเมกนัม (cm)	34.44 ± 1.78	34.56 ± 3.05	35.31 ± 3.51	36.38 ± 3.51	35.18 ± 2.57	0.6899
ความกว้างเมกนัม (cm)	1.67 ± 0.20	1.59 ± 0.31	1.80 ± 0.28	1.65 ± 0.17	1.70 ± 0.23	0.5217
ความยาวอิสมัท (cm)	9.56 ± 0.76	9.39 ± 1.07	9.48 ± 1.33	10.73 ± 1.78	9.56 ± 0.82	0.1251
ความกว้างอิสมัท (cm)	1.35 ± 0.17	1.45 ± 0.25	1.39 ± 0.25	1.45 ± 0.25	1.40 ± 0.25	0.8449
ความยาวยูเทอรัส (cm)	8.56 ± 1.58	8.56 ± 1.02	9.31 ± 1.53	9.60 ± 1.61	9.12 ± 1.02	0.5058
ความกว้างยูเทอรัส(cm)	4.16 ± 0.62	4.30 ± 0.51	4.36 ± 0.34	4.19 ± 0.65	4.21 ± 0.79	0.9467
ความยาววาจิना (cm)	5.89 ± 0.98	6.14 ± 0.51	5.10 ± 0.25	5.76 ± 0.79	5.88 ± 0.88	0.1100
ความกว้างวาจินา (cm)	2.10 ± 0.34	1.98 ± 0.45	1.94 ± 0.42	2.16 ± 0.40	1.88 ± 0.45	0.5870

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานในแถวเดียวกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

14. ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อระดับ ริงไข่ การสะสมไขมัน และฮอร์โมนเอสตราไดออล

การเสริมเมทไธโอนีนทำให้น้ำหนักตัวไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีน แต่เมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัว พบว่าในกลุ่มที่เสริม DLM LMA 0.115 % และ LMA 0.123 % มีแนวโน้มน้อยกว่ากลุ่มที่ไม่เสริม แต่ในกลุ่มที่เสริม LMA 0.133 % ทำให้เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวน้อยกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังในตารางที่ 19

ไก่กลุ่มที่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีนทำให้น้ำหนักริงไข่มีแนวโน้มมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ยกเว้นในกลุ่มที่เสริม LMA 0.115 % โดยไก่กลุ่มที่เสริม LMA มีแนวโน้มปริมาณริงไข่มากขึ้นตามลำดับกลุ่มที่เสริม แต่เมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ริงไข่ต่อน้ำหนักตัวมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ไก่กลุ่มที่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีนทำให้น้ำหนักไขมันช่องท้องมีแนวโน้มมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ยกเว้นในกลุ่มที่เสริม LMA 0.115 % โดยไก่กลุ่มที่เสริม LMA มีแนวโน้มปริมาณไขมันช่องท้องมากขึ้นตามลำดับกลุ่มที่เสริม แต่เมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ไขมันช่องท้องต่อน้ำหนักตัวมีค่าไม่แตกต่างกัน

การเสริมเมทไธโอนีนทำให้ฮอร์โมนเอสตราไดออลมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีน ($p < 0.01$) ส่วนการเสริมเมทไธโอนีนในรูป DLM และ LMA ไม่ทำให้มีปริมาณของเอสตราไดออลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การเสริมเมทไธโอนีนทำให้เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวน้อยกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีน ซึ่ง Bunchasak and Silpasorn (2005) รายงานว่าการเสริมเมทไธโอนีนทำให้ตัวมีขนาดเล็กลงเนื่องจากเมทไธโอนีนสามารถป้องกันไม่ให้ขนาดของตัวใหญ่ขึ้นอันเกิดจากการสะสมไขมัน การเสริมเมทไธโอนีนทำให้น้ำหนักริงไข่และไขมันช่องท้องสูงขึ้นแต่การเสริมในปริมาณเล็กน้อยไม่มีผลต่อริงไข่และไขมันช่องท้องเห็นได้จากในกลุ่มที่เสริม LMA 0.115 % มีริงไข่และไขมันน้อยที่สุด และในกลุ่มที่เสริม LMA 0.133 % จะมีปริมาณริงไข่และไขมันช่องท้องมากที่สุด แต่เมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากไก่อมีน้ำหนักตัวแตกต่างกันโดยไก่ในกลุ่มที่ได้รับการเสริมเมทไธโอนีนมีน้ำหนักตัวมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริมทำให้เมื่อคิดเป็นสัดส่วนจึงไม่แตกต่างกัน และการที่ไก่อมีน้ำหนักริงไข่มากเมื่อเสริมเมทไธ

ไอนีนนั้น อาจเกิดจากอิทธิพลความสมดุลของกรดอะมิโน จึงต้องมีการสร้างไข่แดงในรังไข่มากขึ้น เพื่อที่จะสร้างผลผลิตไข่ให้มากขึ้น (production) ทำให้น้ำหนักรังไข่มากขึ้น

การขาดเมทไธไอนีนทำให้ไขมันช่องท้องต่ำอาจเกิดจากไข่ไข่กลุ่มที่ขาดเมทไธไอนีน กินอาหารได้น้อย ทำให้ได้รับพลังงานน้อย จึงเหลือพลังงานเพื่อสะสมเป็นไขมันน้อย (Tanaka *et al.*, 1983) และทวิศักดิ์ (2546) พบว่าการเสริม DLM ในอาหารโปรตีน 14 % ทำให้ตัวมีขนาดเล็กลง แต่ % ไขมันในตับเพิ่มขึ้น นอกจากนี้บุญล้อม (2541ก) ได้รายงานว่าการสลายเมทไธไอนีนซึ่งเป็นกรดอะมิโนประเภทกลูโคจีนิกสามารถเปลี่ยนเป็นสารตัวกลางในวิถีไกลโคไลซิสและวัฏจักรเครบส์ (TCA cycle) ได้จึงสามารถเปลี่ยนแปลงให้พลังงาน ซึ่งสอดคล้องกับ Smith *et al.* (1983) ที่รายงานว่าการเสริมเมทไธไอนีน ทำให้มีการสังเคราะห์กรดไขมันในตับมากขึ้น

Hermier (1997) รายงานว่า VLDL เป็นตัวขนส่งหลักของไตรกลีเซอไรด์และพบ VLDL ในไข่อ่อนมากกว่าในไข่ฟอม โดยที่ Bunchasak and Keawarun (2006) พบว่า การเสริมเมทไธไอนีนในรูปของ DLM และ LMA มีแนวโน้มทำให้ไขมันในตับไข่กระทงเพิ่มขึ้น และกนกกาญจน์ (2549) พบว่า การเพิ่มระดับโปรตีนทำให้น้ำหนักตับ และปริมาณไตรกลีเซอไรด์ในตับเพิ่มขึ้น ซึ่งไตรกลีเซอไรด์ในตับอาจจะถูกส่งไปสะสมที่ช่องท้องมากขึ้น โดยที่ไขมันจะรวมเป็นกลุ่มเนื้อเยื่อไขมัน ซึ่งเนื้อเยื่อไขมันนี้ประกอบด้วย โมโน ไค หรือ ไตรกลีเซอไรด์ แต่โดยส่วนใหญ่จะเป็นไตรกลีเซอไรด์ (สัญญา, 2534) ดังนั้นในการทดลองเสริมเมทไธไอนีนที่ทำให้ไขมันช่องท้องสูงขึ้นจึงน่าจะมีสาเหตุจากมี VLDL ซึ่งเป็นตัวขนส่งหลักของไตรกลีเซอไรด์สูงขึ้นด้วย

การสังเคราะห์และสะสมไขมันในตับเกิดจากอิทธิพลของฮอร์โมนเอสโตรเจนซึ่งถูกสังเคราะห์จากรังไข่ (Akiba *et al.*, 1982) ดังนั้นการสะสมไขมันในช่องท้องที่มากขึ้นจากการเสริมเมทไธไอนีนอาจเกิดจากอิทธิพลของฮอร์โมนเอสโตรเจนด้วยก็เป็นได้ เนื่องจากพบว่าฮอร์โมนเอสโตรไดออกสูงขึ้นด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าการเสริมเมทไธไอนีนทำให้น้ำหนักรังไข่มากขึ้น จึงอาจทำให้มีการผลิตเอสโตรไดออกซึ่งป็นรูปหนึ่งของฮอร์โมนเอสโตรเจนมากขึ้น อีกทั้ง Hillgartner *et al.* (1995) รายงานว่าการสังเคราะห์ไขมันถูกกระตุ้นโดยเอสโตรเจนเพื่อการสังเคราะห์ vitellogenin สำหรับสร้างไข่แดง

ตารางที่ 19 ผลของการเสริมเมทิลไอโอดีนต่อดัชนีฮอร์โมนเอสตราไดโอดและการสะสมไขมันในไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์

ลักษณะที่ศึกษา	Basal	DLM	LMA 0.115 %	LMA 0.123 %	LMA 0.133 %	p-value
น้ำหนักตัว (g)	49.61 ± 7.98	46.90 ± 5.71	43.55 ± 5.18	48.19 ± 9.08	44.77 ± 9.11	0.3122
น้ำหนักตัวต่อน้ำหนักตัว (%)	2.67 ± 0.51 ^a	2.38 ± 0.20 ^{ab}	2.29 ± 0.14 ^{ab}	2.42 ± 0.20 ^{ab}	2.16 ± 0.31 ^b	0.0197
รังไข่ (g)	39.45 ± 6.31 ^{ab}	40.91 ± 8.32 ^{ab}	37.56 ± 6.19 ^b	42.76 ± 5.35 ^{ab}	45.08 ± 5.60 ^a	0.0468
รังไข่ต่อน้ำหนักตัว (%)	2.11 ± 0.37	2.06 ± 0.23	1.98 ± 0.31	2.17 ± 0.20	2.21 ± 0.37	0.5293
ไขมันช่องท้อง (g)	117.82 ± 55.04 ^{ab}	121.25 ± 35.13 ^{ab}	104.26 ± 26.13 ^b	133.58 ± 39.43 ^{ab}	139.99 ± 48.56 ^a	0.0340
ไขมันช่องท้องต่อน้ำหนักตัว (%)	5.99 ± 1.92	6.06 ± 1.27	5.47 ± 1.19	6.65 ± 1.44	6.62 ± 1.33	0.1377
เอสตราไดโอด (pg/ml)	77.58 ± 21.75 ^B	88.17 ± 16.81 ^{AB}	104.92 ± 15.31 ^A	99.50 ± 14.56 ^A	100.69 ± 18.96 ^A	0.0023

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

^a และ ^b ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

^A และ ^B ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรแตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)

15. ผลของการเสริมเมทไธโอนีนต่อไตและค่าฮีมาโตคริต

การให้อาหารเสริมเมทไธโอนีนเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีนในอาหารไก่ไข่ พบว่าไม่มีผลต่อน้ำหนักไต ความยาวไต น้ำหนักไตข้างหนัก/ข้างเบาและค่าฮีมาโตคริตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังในตารางที่ 20

Keshavarz (1987) พบว่าการให้อาหารที่มีแคลเซียม 3.5% และฟอสฟอรัสใช้ประโยชน์ได้ 0.4 % ในไก่ก่อนระยะไข่ ทำให้ไตถูกทำลายและจากการทดลองของ Wideman *et al.* (1993) พบว่าการเสริม DLM ที่ระดับ 0.6 % หรือ LMA ที่ระดับ 0.68 % ในอาหารที่มี แคลเซียม 3.5 % ทำให้ไก่มีวิธีการที่ไต และน้ำหนักน้อยกว่ากลุ่มที่เสริม 0.3 % DLM หรือ 0.34 % LMA และกลุ่มที่ไม่ได้เสริม เมทไธโอนีนเลย แต่การเสริมเมทไธโอนีนทั้ง 2 แหล่งและ 2 ระดับ ไม่ทำให้ค่ามวลไตข้างหนัก/ข้างเบาเปลี่ยนแปลง ทั้งนี้คณะวิจัยได้ให้เหตุผลว่า ความเป็นกรดของปัสสาวะอาจจะสามารถป้องกันการสะสมนี้ไว้ได้ และการเสริม เมทไธโอนีนทั้ง 2 แหล่ง ไม่มีผลต่อคุณภาพเปลือกไข่ และการสะสมแร่ธาตุในกระดูก ซึ่งจากการทดลองครั้งนี้พบว่าการเสริมเมทไธโอนีนไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของมวลไตข้างหนัก/ข้างเบาเช่นกัน ดังนั้นไก่ในทุกกลุ่มทดลองจึงมีภาวะของ kidney asymetry ไม่แตกต่างกัน

การเปลี่ยนแปลงของระบบหลอดเลือดหัวใจ เพื่อปรับความต้องการออกซิเจน เช่น เมื่อนำไปใช้ในการบิน หรือในที่สูงๆ และในที่ที่มีอุณหภูมิต่ำ (Yahav, 1997) เมื่อร่างกายขาดออกซิเจน ปฏิกริยาอันดับแรกของร่างกาย คือ เพิ่มอัตราการเต้นของหัวใจ (Silversides *et al.*, 1997) ซึ่งจะทำให้ค่าฮีมาโตคริตมีค่าเพิ่มขึ้น ค่าฮีมาโตคริตที่ไม่แตกต่างกันนี้ อาจจะเป็นผลมาจากไก่ได้รับสภาพแวดล้อมที่ไม่แตกต่างกัน และไม่มีภาวะที่ส่งผลกระทบต่ออัตราการเต้นของหัวใจที่แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Wideman *et al.* (1993) ที่พบว่าการเสริม LMA ที่ระดับ 0.68 % ในอาหารที่มีแคลเซียม 3.5 % ไม่มีผลต่อค่าฮีมาโตคริต จึงเห็นได้ว่าการเสริมเมทไธโอนีนในระยะการเลี้ยง 12 สัปดาห์ไม่มีผลต่อความแตกต่างของค่าฮีมาโตคริต

ตารางที่ 20 ผลของการเสริมเมทิลโฮนินต่อไตและค่าฮีมาโตคริตในไก่ไข่อายุ 34-46 สัปดาห์

ลักษณะที่ศึกษา	Basal	DLM	LMA 0.115 %	LMA 0.123 %	LMA 0.133 %	p-value
น้ำหนักไตซ้าย (g)	5.67 ± 1.41	5.11 ± 1.10	5.71 ± 0.85	5.56 ± 0.93	5.55 ± 1.05	0.7168
น้ำหนักไตขวา (g)	5.34 ± 1.47	5.26 ± 0.93	4.99 ± 0.79	5.98 ± 0.59	5.56 ± 1.36	0.4422
heavy/light kidney	1.19 ± 0.17	1.18 ± 0.20	1.21 ± 0.17	1.13 ± 0.17	1.10 ± 0.03	0.6791
ความยาวไตซ้าย (cm)	6.31 ± 0.25	6.56 ± 0.31	6.28 ± 0.25	6.31 ± 0.59	6.56 ± 0.51	0.1854
ความยาวไตขวา (cm)	6.25 ± 0.25	6.16 ± 0.51	6.38 ± 0.45	6.37 ± 0.34	6.40 ± 0.34	0.6290
ฮีมาโตคริต (%)	23.93 ± 2.45	24.40 ± 4.31	27.75 ± 5.07	28.50 ± 6.29	26.52 ± 2.06	0.1419

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานในแถวเดียวกันไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. การเลี้ยงไก่ไข่ในโรงเรือนระบบปิดโดยใช้อาหารที่มีโปรตีน 16 % และเสริมเมทไธโอนีนจาก 2 แหล่ง คือ DLM และ LMA พบว่าการเสริม LMA 0.123 % ของอาหารมีสมรรถภาพการผลิต ได้แก่ น้ำหนักตัว การกินอาหาร การกินน้ำ ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร ผลิตไข่ น้ำหนักไข่ มวลไข่ มากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริม แต่ไม่แตกต่างจากการเสริม DLM

2. การเสริม LMA ทุกระดับทำให้ค่าฮอกยูนิตมีแนวโน้มน้อยกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีน แต่มีแนวโน้มมากกว่ากลุ่มที่เสริม DLM ซึ่งอาจจะเกิดจากความเป็นกรดของ LMA ทำให้ pH ในไข่ขาวต่ำลง และไปมีผลยับยั้งกระบวนการการเปลี่ยนแปลงของไข่ขาว

3. การเสริม LMA 0.123 % ทำให้มีปริมาณโปรตีนมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริม การเสริม LMA ทุกระดับทำให้ไขมันในไข่สูงขึ้นกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริมเมทไธโอนีน และการเสริม LMA ทำให้ปริมาณโปรตีนและไขมันไม่แตกต่างจากการเสริม DLM ยกเว้นปริมาณไขมันในกลุ่มที่เสริม DLM จะมีมากกว่าในกลุ่มที่เสริม LMA 0.115 %

4. การเสริม LMA ทำให้มีการผลิตไข่มากขึ้น จึงมีผลต่อความหนาเปลือกไข่และเปอร์เซ็นต์เปลือกไข่ที่น้อยลง แต่มีผลต่อประสิทธิภาพการเปลี่ยนแคลเซียม ฟอสฟอรัสที่กินให้เป็นแคลเซียมและฟอสฟอรัสในเปลือกที่มากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีน และการเสริม LMA ให้ผลการทดลองที่ไม่แตกต่างจากการเสริม DLM

5. การเสริม LMA ทำให้มีการกินอาหารมากขึ้นจึงได้รับแคลเซียมและฟอสฟอรัสมากขึ้น มีการขับออกของมูลมากขึ้น และมีการสร้างผลผลิตมากขึ้นจึงมีการสะสมแคลเซียม ฟอสฟอรัสในร่างกายไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ไม่เสริม ยกเว้นในกลุ่มที่เสริม LMA 0.123 % มีการขับออกของมูลไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ไม่เสริมเมทไธโอนีน จึงอาจเป็นไปได้ว่าในกลุ่มที่เสริม LMA 0.123 % มีการใช้อาหารอย่างมีประสิทธิภาพ และการเสริม LMA ทำให้การสะสมแคลเซียม ฟอสฟอรัสไม่แตกต่างจากการเสริม DLM

6. การเสริม LMA 0.133 % ทำให้น้ำหนักแข้ง น้ำหนักไขมันช่องท้อง และเปอร์เซ็นต์ไขมันในกระดูก tibia มีแนวโน้มมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริมเมทไธโอนีน สำหรับปริมาณเอสตราไดออลการเสริม LMA ทุกระดับมีค่ามากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริมเมทไธโอนีน และการเสริม LMA ให้ผลการทดลองที่ไม่แตกต่างจากการเสริม DLM

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาผลของ ดีแอล-เมทไธโอนีนไฮดรอกซีอนาลอค ต่อสมรรถภาพการผลิตคุณภาพเปลือกไข่ และการสะสมแร่ธาตุในไข่ไก่ในครั้งนี้ มีข้อเสนอแนะดังต่อไปนี้

1. จากการทดลองพบว่า bioefficacy ของ LMA เมื่อพิจารณาจากสมรรถภาพการผลิตมีค่าเท่ากับ 82 % ของ DLM ดังนั้นในการใช้ LMA เพื่อให้มีสมรรถภาพการผลิตไม่ต่ำกว่า DLM จึงควรเสริม LMA ที่ bioefficacy 82 %

2. อาหารที่ขาดเมทไธโอนีนทำให้มีไขมันในฟองไข่น้อย ดังนั้นอาจเป็นจุดที่น่าสนใจในการผลิตไข่ที่มีไขมันต่ำ แต่ในขณะเดียวกันก็จะทำให้ผลผลิตไข่ต่ำ ซึ่งอาจนำไปใช้ในภาวะที่ไข่มีราคาถูกลง เพื่อเป็นการลดผลผลิต และเป็นการเพิ่มมูลค่าของไข่ แต่ในการทดลองครั้งนี้ไม่มีการวิเคราะห์ชนิดไขมันและองค์ประกอบของไขมันซึ่งอาจเป็นตัวชี้วัดคุณภาพของไขมัน ดังนั้นในการศึกษาครั้งต่อไป ควรมีการศึกษาถึงผลของอาหารที่ขาดเมทไธโอนีนต่อชนิดไขมันและองค์ประกอบของไขมันในไข่

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- กนกกาญจน์ ภู่อุวรรณ. 2549. ผลของระดับโปรตีนและกรดอะมิโนเมทไธโอนีน ในอาหารต่อ
สมรรถภาพการผลิตภูมิคุ้มกัน และการเกิด Fatty liver syndrome ในไข่ไก่ไข่.
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์. 2548. การใช้โปรตีนและกรดอะมิโนในสัตว์กระเพาะเดียว. สำนักส่งเสริมและ
ฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว. 2541. สรีรวิทยาทางเดินอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล
พับลิเคชั่น จำกัด, กรุงเทพฯ.
- เชาว์วิทย์ ระฆังทอง. 2548. ผลของระดับโปรตีนและกรดอะมิโนเมทไธโอนีนต่อสมรรถภาพการ
ผลิตและองค์ประกอบมูลของไก่ไข่ในโรงเรือนระบบปิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท,
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ทวีศักดิ์ ศิลปสอน. 2546. ผลของกรดอะมิโนเมทไธโอนีน ในอาหารโปรตีนต่ำต่อสมรรถภาพการ
ผลิตไข่ การใช้ประโยชน์ได้ของไนโตรเจน และสรีระของไก่ไข่ที่เลี้ยงในโรงเรือนระบบ
เปิดและปิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- บุญล้อม ชีวะอิสระกุล. 2541ก. ชีวเคมีทางสัตวศาสตร์. ฉบับบรรณาการพิมพ์. เชียงใหม่.
- _____ 2541ข. โภชนศาสตร์สัตว์. ฉบับบรรณาการพิมพ์. เชียงใหม่.
- ปฐม เล่าหะเกษตร. 2543. การเลี้ยงสัตว์ปีก. ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์. คณะเทคโนโลยีการ
เกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

มนตรี จุฬาวัฒนทล , ม.ร.ว.ชินนุสรณ์ สวัสดิวัฒน์ ยงยุทธ ยุทธวงศ์ , ภิญโญ พานิชพันธ์ ,
ประหยัด โกมารทัต , พิณทิพย์ รื่นวงษา , ชีรยศ วิทิตสุวรรณกุล , บุรชัย สมนยานนท์ ,
สุมาลี ตั้งประดับกุล และ มธุรส พงษ์ลิขิตมงคล. 2542. **ชีวเคมี**. หจก. จีรรัชการพิมพ์,
กรุงเทพฯ.

วรวิทย์ วนิชากิชาติ. 2531. **ไข่และการฟักไข่**. สำนักพิมพ์รวีเขียว.

วิโรจน์ จันทรัตน์. 2537. **กายวิภาคและสรีรวิทยาของสัตว์ปีก**. มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่.

สัญญาชัย จตุรสีทธา. 2534. **การจัดการเนื้อสัตว์**. ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

เสกสม อาตมางกูร. 2547. **การใช้สารเสริมเพื่อช่วยปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาการของอาหารสัตว์**.
เอกสารประกอบการฝึกอบรมเทคนิคการผลิตอาหารสัตว์ชั้นสูง.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน, นครปฐม.

อาภัสสรา ชมิศท์. 2543. **ชีวเคมี**. ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

โอสถ นาคสกุล. 2535. **ผลของโปรตีนและเมทาไบโอตินในสูตรอาหารต่อสมรรถนะการ
เจริญเติบโตของไก่พื้นเมืองลูกผสม**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Acda, S.P. and B.J. Chae. 2002. A review on the applications of organic trace minerals in pig
nutrition. **Pak. J. Nutr.** 1(1): 25-30.

Ahmad, H.A. and R.J. Balander. 2004. Physiological response of layers to alternative
feeding regimen to calcium source and phosphorus level. **Int. J. Poult. Sci.** 3(2):
100 - 111.

Akiba, Y., L.S. Jensen and M.S. Lilburn. 1982. Effect of estrogen implants on hepatic lipid
deposition in chicks fed different isonitrogenous and caloric diets. **J. Nutr.** 112: 189-196.

- Ammerman, C.B. 1995. Methods for estimation of mineral bioavailability. In C.B. Ammerman, D.H. Baker and A.J. Lewis, eds. **Bioavailability of nutrients for animals amino acids, minerals and vitamins**. Academic Press, Inc, America.
- Anderson , K.E., J.B. Tharrington , P.A. Curtis and F.T. Jones. 2004. Shell characteristics of eggs from historic strains of single comb white leghorn chickens and the relationships of egg shape to shell strength. **Int. J. Poult. Sci.** 3(1): 17 – 19.
- Anderson, G.H. and H.H. Draper. 1972. Effect of dietary phosphorus on calcium metabolism in intact and parathyroidectomized adult rats. **J. Nutr.** 108: 447 – 457.
- 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. n.d. **Nutritional Requirements: Overview**. Available source: <http://www.merckvetmanual.com/mvm./index.jsp?cfile=htm/bc/206901.htm>, Sep 26, 2007.
- AOAC. 1990. **Official Method of Analysis**. 15th ed. Association of Official Agricultural Chemists, Inc., Virginia.
- ARC. 1981. **The Nutrient Requirements of Pigs**. Commonwealth Agriculture Bureau, Farnham Royal, Slough, UK.
- Atapattu, N.S.B.M. and C.J. Nelligawatta. 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. **Int. J. Poult. Sci.** 4 (12) : 990-993.
- Bain, M.M. 2005. Recent advances in the assessment of eggshell quality and their future application. **World's Poult. Sci. J.** 61(002): 268-277.

- Baker, D.H. 1994. Utilization of precursor for L-amino acids. *In* J.P.F.D' Mello, ed. **Amino Acids in Farm Animal Nutrition**. CAB International, Wallingford, UK.
- Baker, D.H. and K.P. Boebel. 1981. Utilization of the D-isomers of arginine and histidine by chicks and rats. **J. Anim. Sci.** 53: 125-129.
- _____ and G.L. Czarnecki. 1985. Tranmethylation of homocysteine to methionine efficiency in the rat and chick. **Poult. Sci.** 115: 1291-1299.
- Bar, A., E. Vex and S. Striem 1992. Relationships between calbindin (Mr 28,000) and calcium transport by the eggshell gland. **Comp. Biochem. Physiol. Comp. Physiol.** 101(4): 845-848.
- Bateman, A., Z. Liu and D.A. Roland. 2005. Bioefficacy determination of methionine hydroxy analog-free acid relative to DL-methionine in Laying Hen Diets with limited methionine using different regression models. **Int. J. Poult. Sci.** 4 (9): 628-632.
- Beck, M.M. and K.K. Hansen. 2004. Role of estrogen in avian osteoporosis. **Poult. Sci.** 83: 200 – 206.
- Block, G.D., R. J. Wood and L.H. Allen. 1980. A comparison of the effects of feeding sulfur amino acids and protein on urine calcium in man. **Am. J. Clin. Nutr.** 33: 2128 – 36
- In Allen, L.H. 1982. Calcium bioavailability and absorption: a review. **Am. J. Clin. Nutr.** 35: 783 – 808.
- Boushy, A.R.E. 1966. **Egg Shell Quality and Microstructure as Affected by Vitamin C, Other Feed Additives and High Environmental Temperatures**. Mededelingen Landbouwhogeschool, Wageningen.

- Bunchasak, C. and N. Keawarun. 2006. Effect of methionine hydroxyl 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. **J. Anim. Sci.** 77(1): 95 – 102.
- _____ and T. Silpasorn. 2005. Effects of adding methionine in low protein diet on production performance, reproductive organs and chemical liver composition of laying hens under tropical conditions. **Int. J. Poult. Sci.** 4 (5): 301-308.
- Buttery, P.J. and J.P.F.D' Mello. 1994. Amino acid metabolism in farm animal: an overview, pp. 1-10. In J.P.F.D' Mello, ed. **Amino Acid in Farm Animal Nutrition**. CAB International, Wallingford, UK.
- Card, L.E. and M.C. Nesherm, 1972. **Poultry Production**. 11th ed. Humphrey Press, Philadelphia.
- Carey, J.B., R.K. Asher, J.F. Angel and L.S. Lowder. 1991. The influence of methionie intake on egg composition. **Poult. Sci.** 70 (suppl.1): 151-159.
- Carter, T.C. 1975. The hen' s egg: Estimation of shell superficial area and egg volume, using measurements of fresh egg weight and shell length and breadth alone or in combination. **Br. Poult. Sci.** 16: 541 – 543.
- Champagne, E.T. and B.Q. Phillippy. 1989. Effets of pH on calcium , zinc and phytate solubilities and complexes following in vitro digestions of soy protein isolate. **J. of Food Science.** 54(3): 587 – 592.
- Christensen, V.L., G.S. Davis and L.A. Lucore. 1996. Eggshell conductance and other functional qualities of ostrich eggs. **Poult. Sci.** 75: 1404-1410.

- Chung H. J., L. Chung-Yi and P. Wen-Shyg Chiou. 1998. Effects of ambient temperature and methionine supplementation of a low protein diet on the performance of laying hens. **Anim. Feed Sci. Technol.** 74:289-299.
- Chwalibog, A. 1992. Factorial estimation of energy requirement for egg production. **Poult. Sci.** 71: 509-515.
- Cieszkowski, M., S.S. Konturek, W. Obtulowicz and J. Tasler. 1975. Chemical stimulatory mechanism in gastric section. **The J. of physiology.** 246: Abst.
- Cole, D.J.A. and T.A. Van Lumen. 1994. Ideal amino acid pattern. *In* J.P.F.D' Mello, ed. **Amino Acid in Farm Animal Nutrition**, CAB International, Wallingford, UK.
- Curtis, P.A., F.A. Gardner and D.B. Mellor. 1985. A comparison of selected quality and compositional characteristics of brown and white shell eggs. I. Shell quality. **Poult. Sci.** 64: 297-301.
- Danner, E.E. and W. Bessei. 2002. Effectiveness of liquid DL-methionine hydroxyl analogue-free acid(DL-MHA-FA) compared to DL-methionine on performance of laying hens. **Arch. Geflugelk.** 66(3): 97-101.
- Dibner, J.J. and C.D. Knight. 1984. Conversion of 2- hydroxyl-4-(methylthio) butanoic acid and L- methionine in the chick: Asteriospecific pathway. **J. Nutr.** 114: 1716-1723.
- _____ and P. Buttin. 2002. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. **Applied Poult. Res.** 11(4): 452-463.

- _____, 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.
- Dominguez, J.H., R.W. Gray and J.J. Leman. 1976. Dietary phosphate deprivation in women and men: effects of mineral and acid balances, parathyroid hormone and the metabolism of 25 - OH vitamin D. **J. Clin. Endocrinol Metab.** 43:1056-68.
- Ehtesham, A. and S.D. Chowdhury. 2002. Responses of laying chickens to diets formulated by following different feeding standards. **Pak. J. Nutr.** 1: 127-131.
- Farber, E., M.V. Simpson and H. Traver. 1950. Studies on methionine. The interference with lipid metabolism. **J. Biol. Chem.** 182: 91.
- Ferguson, N.S., G.A. Arnold, G. Lavers and R.M. Gous. 2000. The response of growing pigs to amino acids as influenced by environmental temperature. **Br. Soc. Anim. Sci.** 70:287-297.
- Fernandez, R., A.J. Salman and J. McGinnis. 1973. Effect of feeding different protein levels and of changing protein level on egg production. **Poult. Sci.** 52: 64-69.
- Festing, M.F. and A.W. Nordskog. 1967. Response to selection for body weight and egg weight in chickens. **Genetics.** 55: 219-231.
- Finkelstein, J.D. 1990. Methionine Metabolism in Mammals. **J. Nutr. Biochem.** 1: 228-237.
- Fisher, C. 1969. The effects of a protein deficiency on egg composition. **Br. Poult. Sci.** 10: 149-154.
- Fisher, C. 1970. The determination of the methionine requirements of laying pullets by a diet dilution technique. **Br. Poult. Sci.** 11: 67- 82.

- Frank, F.R., M.H. Swanson and R.E. Burger. 1964. The relationship between selected physical characteristics and the resistance to shell failure of Gallus Domesticus eggs. **Poult. Sci.** 43: 1228 – 1235.
- Fraser, A.C. , M.M. Bain , and S.E. Solomon. 1998. Organic protein matrix morphology and distribution in the palisade layer of eggshells sampled at selected periods during lay. **Br. Poult. Sci.** 39 : 225 – 228.
- Gordon, D.T., D. Stoops and V. Ratliff. 1995. Dietary fiber and mineral nutrition. *In* D. Kritchevsky, and C. Bonfield, eds. **Dietary Fiber in Health & Disease**. Eagan press, America. 486p. Cited O'Dell, B.L. 1984. Bioavailability of and interactions among trace elements. *In* R.K. Chandra, ed. **Trace Elements in Nutrition of Children**. Vevey/Raven press, New York.
- Gordon, R.S. and I.W. Sizer. 1965. Conversion of methionine hydroxy analogue to methionine in the chick. **Poult. Sci.** 44: 673-678.
- Grossman, M. and W.J. Koops. 2001. A model for individual egg production in chickens. **Poult. Sci.** 80:859-867.
- Gueguen, L. and A. Pointillart. 2000. The bioavailability of dietary calcium. **Journal of the American college of Nutrition.** 19(90002): 119s-136s.
- Guthrie, H. A. 1975. **Introductory Nutrition**. C.V. Mosby, St.Louis.
- Hall, K.N. and N.V. Helbacka. 1959. Improving albumen quality. **Poult. Sci.** 38: 111-114.
- Hammershoj, M. and J.B. Kjaer. 1999. Phase feeding for laying hens : effect of protein and essential amino acids on egg quality and production. Acta Agriculturae Scandinavica section A – **Anim. Sci.** 49: 31-41.

- Han, Y., F. Castanon, C.M. Parsons and D.M. Baker. 1990. Absorption and bioavailability of DL-methionine hydroxyl analog compared to DL-methionine. **Poult. Sci.** 69: 281-287.
- Harms, R.H. and G.B. Russell. 1994. A comparison of the bioavailability of DL-methionine hydroxy analogue acid for the commercial laying hen. **J. Appl. Poult. Res.** 3: 1-6.
- Harper, A.E. and Q.R. Rogers. 1965. Amino acid diets and maximal growth in the rat. **J. Nutr.** 87: 267-73.
- 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.
- Hegsted, M.S., M.Z. Schutte and H.M. Linkswiler. 1979. The effect of level of protein and phosphorus intake on calcium balance in young adult men. **Federation Proc.** 38: 765 (abstr)
- Hermier, D. 1997. Lipoprotein metabolism and fattening in poultry. **J. Nutr.** 127: 8055 – 8085.
- Hiramoto, K., T. Muramatsu and J. Okurama. 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.
- Hillgartner, F.B., L.M. Salati and A.G. Goodridge. 1995. Physiological and molecular mechanisms involved in nutritional regulation of fatty acid synthesis. **Physiol. Rev.** 75: 47– 76.
- 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.

- Hunton, P. 2005. Research on eggshell structure and quality: An historical overview. **Braz. J. Poult. Sci.** 7 (2): 67-71.
- Hurwitz, S. and P. Griminger. 2006. Estimation of calcium and phosphorus requirement in laying hens by balance techniques . **J. Sci. Fd. Agric.** 13 (3): 185 – 191.
- Iji, P.A., A. Saki and D.R. Tivey. 2001. Body and intestinal growth of broiler chicks on a commercial stater diet. I. Intestinal weight and mucosal development. **Poult. Sci.** 42: 505-513.
- Ingram G.R., W.W.Cravens, C.A. Elvehjem and J.G. Halpin. 1951. The methionine requirement of the laying hen. **Poult. Sci.** 30: 431- 434.
- Ishibashi, T. and C. Yonemochi. 2003. Amino acid nutrition in egg production industry. **Anim. Sci. J.** 74: 457-469.
- IUPAC. 1995. Critical evaluation of the stability constants of metal complexes of amino acids with polar side chains (Technical report). **Pure Appl. Chem.** 67: 1117 – 1240.
- Jackson, M.E., H.M. Hellwig and P.W. Waldroup. 1987. Shell quality: potential for improvement by dietary means and relationship with egg size. **Poult. Sci.** 66(10): 1702-13.
- James, J.E.C. and R.S. Wheeler. 1949. Relation of dietary protein content to water intake, water elimination and amount of cloacal excreta produced by growing chickens. **Poult. Sci.** 28: 465-467.
- Jianlin, S., J.H. Kersey, C.A. Fritts and P.W. Waldroup. 2004. An evalution of the interaction of lysine and rethionine in diets for growing broilers. **Int. J. Poult. Sci.** 3(1): 51– 60.

Karbach, U. and H. Feldmeier. 1993. The cecum is the site with the highest calcium absorption in rat intestine. **Dig. Dis. Sci.** 38: 1815-1824.

Keener, K.M., J.D. LaCrosse, P.A. Curtis, K.E. Anderson and B.E. Farkas. 2000. The influence of rapid air cooling and carbon dioxide cooling and subsequent storage in air and carbon dioxide on shell egg quality. **Poult. Sci.** 79: 1067-1070.

Keshavarz, K. 1987. Influence of feeding a high calcium diet for various durations in prelaying period on growth and subsequent performance of white leghorn pullets. **Poult. Sci.** 66: 1576 – 1582.

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

Klavins, J.V., T.D. Kinney and N. Kaufman. 1959. The Effect of DL-ethionine on skeletal growth in rats. **J. Nutr.** 67(3). 363-379.

Knight, C.D. and J.J. Dibner. 1984. Comparative absorption 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 high environmental temperature on broiler performance response to source of methionine activity. **Poult. Sci.** 73: 627-39.

Kuchkersan, S., K. Kuchkersan, I. Colpan, E. Goncuoglu, Z. Reisli and D. Yesilbag. 2005. The effects of humic acid on egg production and egg traits of laying hen. **Vet. Med. – Czech.** 50(9): 406-410.

- Lemann, J., A.S. Relman and H.P. Connors. 1959. The relation of sulfur metabolism to acid - base balance and electrolyte excretion: the effects of DL - methionine in normal man. **J. Clin. Invest.** 38: 2215.
- Lenz, G.R., and A.E. Martell. 1964. Metal chelates of some sulfur - containing amino acids. **Biochemistry.** 3(6): 745 - 750.
- Lesson, S. and J.D.V. Summer. 2000. Broiler and breeder production: nutrition and feeding. Guelph: University books cited by Viola T.H., A.M.L. Ribeiro and J.A.M. Penz. 2005. Compensatory water consumption of broilers submitted to water restriction from 1 to 21 days of age. **Rev. Bras. Cienc. Avic.** 7(4).
- Lim, H.S. and I.K. Paik. 2006. Effect of dietary supplementation of copper chelates in the form of methionine, chitosan and yeast in laying hens. **Asian Australas. J. Anim. Sci.** 19(8): 1174-1178.
- Liu, Z., A. Bateman, M. Bryant, A. Abebe, and D. Roland. 2004. Estimation of bioavailability of DL-Methionine hydroxyl analogue relative to DL-Methionine in layers with exponential and slope-ratio models. **Poult. Sci.** 83: 1580-1586.
- Maenz, D.D. and C.M. Engele-Schaan. 1996. Methionine and 2-hydroxy-4-methylthiobutanoic acid are transported by distinct Na^+ -dependent and H^+ -dependent systems in the brush border membrane of the chick intestinal epithelium. **J. Nutr.** 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).

Mahmoud, K.Z., M.M. Beck, S.E. Scheideler, M.F. Forman, K.P. Anderson and S.D. Kachman. 1996. Acute high environmental temperature and calcium – estrogen relationships in the hen. **Poult. Sci.** 75: 1555 – 1562.

Margen, S.J.Y.C., N.A. Naufmann and D.H. Calloway. 1974. Studies in calcium metabolism . I. The calciuretic effect of dietary protein **Am. J. Clin. Nutr.** 27: 584.

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

Miller, E.C., J.S.O. Barr and C.A. Denton. 1960. Studies on a short term procedure for determining amino acid requirements of laying hens. **Poult. Sci.** 39: 1438 -1442.

Monsey, J.B., D.S. Robinson, W.S. Miller, and M. Ellis. 1977. The effect of feeding magnesium enriched diet on the quality of the albumen of stored eggs. **Br. J. Nutr.** 37: 35 – 44.

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.

Naber, E.C. 1979. The effect of nutrition on the composition of eggs. **Poult. Sci.** 58: 518 – 528.

NRC. 1984. **Nutrition Requirement of Poultry.** 8th ed. Nation Academy Press, Washington, D.C.

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

- Novak, C., H. Yakout and S. Scheideler. 2004. The combined effects of dietary lysine and total sulfur amino acid level on egg production parameters and egg components in Dekalb Delta laying hens. **Poult. Sci.** 83: 977 – 984.
- Odem, T.W., P.C. Harrison and W.G. Bottje. 1986. Effect of the normally induced respiratory alkalosis on blood ionized calcium levels on the domestic hen. **Poult. Sci.** 65: 570-573.
- Ousterhout, L.E. 1980. Effects of calcium and phosphorus levels on egg weight and egg shell quality in laying hens. **Poult. Sci.** 59: 1480-1484.
- Patrick, H. and P.J. Schaible. 1980. **Poultry Feed Nutrition.** AVI Publishing company, Westport Connecticut.
- Peterson, C.F. 1965. Factors influencing egg shell quality. **World 's Poult. Sci. J.** 21: 110-138.
- Portillo, J.J., G. Contreras, F.G Rios and I.V. Ferrer. 2004. Relationship between internal and external egg characteristics of Japanese quail. **Poult. Sci.** 83, Supplement 1: 8 (Abstracts)
- Predieri, G., L. Elviri, M. Tegoni, I. Zagnoni, E. Cinti, G. Biagi, S. Ferruzza and G. Leonardi. 2005. Metal chelates of 2 hydroxy - 4 - methylthiobutanoic acid in animal feeding. Part 2: further characterizations, in vitro and in vivo investigation. **J. Inorg. Biochem.** 99: 627 - 636.
- _____, M. Tegoni, E., Cinti, G. Leonardi and S. Ferruzza. 2003. Metal chelates of 2 hydroxy – 4 – methylthiobutanoic acid in animal feeding : preliminary investigations on stability and bioavailability. **J. Inorg. Biochem.** 95: 221 – 224.

- Qin, X. and H. Klandorf. 1995. Effect of estrogen on egg production, shell quality and calcium metabolism in molted hens. **Comp. Bioc. Physiol.** 110(1): 55 - 59.
- Rahn, H., V.L. Christensen and F.W. Edens. 1981. Changes in shell conductance, pores, and physical dimensions of egg and shell during the first breeding cycle of turkey hens. **Poult. Sci.** 60: 2536-2541.
- Rao, K.S. and D.A.S. Roland. 1992a. Nutritional and management factors related to osteopenia in laying hens. Pages 281 – 295 . *In* D.A. S. Roland, ed. **Osteopenia in Laying Hens**. Carpax Publishing Company, Oxfordshire, UK.
- _____ and _____ 1992b. Response of early- and late- maturing commercial leghorn pullets to low levels of dietary phosphorus. **Poult. Sci.** 71: 691-699.
- _____, _____, J.I. Orban, H.W. Jr. Rabon and M.M. Bryant. 1995. Age at sexual maturity influences the response of single comb white Leghorn pullets to marginal and low levels of dietary phosphorus **J. Nutr.** 125: 1342 – 1350.
- Ravindran, V. and E.T. Kornegay. 1993. Acidification of weaned pig diets: a review. **J. Sci. Fd. Agric.** 62: 313-322.
- Reid, B.L. 1976. Estimated daily protein requirements of laying hen. **Poult. Sci.** 55: 1641-1645.
- _____ and C.W. Weber. 1973. Dietary protein and sulfur amino acid levels for laying hens during heat stress. **Poult. Sci.** 52: 1335-1343.
- _____, A. Madrid and P.M. Majorino. 1982. Relative biopotency of three methionine sources of laying hens. **Poult. Sci.** 61: 726-730.

- 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 submitted to cyclic heat stress. **Rev. Bras. Cienc. Avic.** 7(3) : 159-164.
- Richardson, C.T., J.H. Walsh, M.I. Hicks and J.S. Fordtran. 1976. Studies on the mechanisms of food – stimulated gastric acid secretion in normal human subjects. **The J. of Investigation.** 58: 623 – 631.
- Roland, D.A.S. 1986. Egg shell quality III : calcium and phosphorus requirements of commercial leghorns. **World Poult. Sci. J.** 42: 154 – 165.
- _____. 1988. Egg shell Problems: Estimates of incidence and economic impact. **Poult. Sci.** 67: 1801 – 1803.
- Romanoff, A.L. and A. J. Romanoff. 1949. **The Avian Egg.** John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Römer, A. and H. Abel. 1999. Effects of DL-methionine hydroxyanalogue (MHA) or DL-methionine (DL-met) on N-retention in broiler chickens and pigs. **Anim. Feed Sci. Technol.** 81: 193-203.
- Romoser, G.L., P.L. Wright and R.B. Grainger. 1976. An evaluation of the L-methionine activity of the hydroxyl analogue of methionine. **Poult. Sci.** 55: 1109-1103.
- Rook, J.A.F and P.C. Thomas. 1983. **Nutritional Physiology of Farm Animals.** Longman Inc., New York.
- 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. **Br. Poult. Sci.** 36: 303-12.

- Roush, W.B. 1981. TI59 calculator program for haugh unit calculator. **Poult. Sci.** 60: 1086-1088.
- SAS. 1990. **SAS/STAT User's Guide**. 4th ed. SAS Institute Inc., Cary, USA.
- Sauberlich, H.E. 1956. Amino acid imbalance as relates to methionine, isoleucine, threonine and tryptophan requirement of the rat or mouse. **J. Nutr.** 59 (3): 353-370.
- Saunderson, L. 1985. Comparative metabolism of L-methionine, DL-methionine and DL-2-hydroxy 4-methylthiobutanoic acid by broiler chicks. **Br. J. Nutr.** 54: 621-633.
- Schuster, G.S., T.R. Dirksen and W.S. Harms. 1975. Effect of exogenous lipid on lipid synthesis by bone and bone cell cultures. **J. Dent. Res.** 54(1): 131- 139.
- Schutte, J.B. and E.J. Van Weerden. 1981. Effectiveness of DL-methionine hydroxy analogue in comparison with DL-methionine in broiler. **Feedstuffs**. 53(26): 16.
- Schutte, J.B., E.J. Vanweerden and H.L. Bertram. 1983. Sulphur amino acid requirement of laying hens and the effects of excess dietary methionine on laying performance. **Br. Poult. Sci.** 24: 319 – 326.
- Scott, M.L., M.C. Nesheim and R.J. Young. 1982. **Nutrition of the Chicken**. Humphrey Press INC., Ithaca, New York.
- _____, S.J. Hull and P.A. Mullendorf. 1971. The calcium requirements of laying hens and effect of dietary oyster shell upon egg shell quality. **Poult. Sci.** 50: 1055-1063.
- Sell, D.R. and J.C. Rogler. 1984. The effects of sorghum tannin and methionine level on the performance of laying hens maintained in two temperature environments. **Poult. Sci.** 63: 109-116.

- Shafer, D.J., J.B. Carey and J.F. Prochaska. 1996. Effect of dietary methionine intake on egg component yield and composition. **Poult. Sci.** 75: 1080-1085.
- Silversides, F.G. and K. Budgell. 2004. The relationships among measures of egg albumen height, pH, and whipping volume. **Poult. Sci.** 83: 1619 – 1623.
- _____, M. R. Lefrancois and P. Villeneuve. 1997. The effect of strain of broiler on physiological parameters associated with the ascites syndrome. **Poult. Sci.** 76: 663–667.
- Sloan, D.R. and R.H. Harms. 1995. Effect of diet on feces composition and the implications on environmental quality. **J. Applied Poult. Res.** 4: 379-383.
- Smith, J. T. , V.A. Robert , B.B. Joyce and L.G. Mary. 1983. A metabolic comparison of cysteine and methionine supplements in the diet of a rat. **J. Nutr.** 113: 222 – 227.
- Soares, J.H.J. 1984. Calcium metabolism and its control - a review. **Poult. Sci.** 63(10): 2075-83.
- Solomon, S.E. 1985. Eggshell pigmentation. *In* R.G. Wells and C.G. Belyavin, ed. Egg quality-current problems and recent advances. **Poultry Science Symposium**. No.20., Butterworths, England.
- _____. 1991. **Egg and Eggshell Quality**. Wolfe Publishing, Aylesbury, England.
- Stevens, L. 1996. Egg proteins: What are their functions. **Sci. Prog.** 79: 65 – 87.
- 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.
- Sturkie, P.D. 1965. **Avian Physiology**. 2nd ed. Cornell University.

- Sturkie, P.D. 1976. **Avian Physiology**. 3rd ed. Springer- Verlag, Newyork.
- Sturkie, P.D. 1986. **Avian Physiology**. 4th ed. Springer- Verlag, Newyork.
- Summers, J.D. 1995. Reduced dietary phosphorus levels for layer. **Poult. Sci.** 74: 1977 – 1983.
- _____, J.L. Atkinson and D. Spratt. 1991. Supplementation of low protein diet in an attempt to optimize egg mass output. **Can. J. Anim. Sci.** 71: 211-220.
- Swinkels, J.W.G.M., E.T. Kornegay and M.W.A. Verstegen. 1994. Biology of zinc and biological value of dietary organic zinc complexes and chelates. **Nutr. Res. Rev.** 7: 129 – 149.
- 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.
- Tanaka, K., S. Ohtani and K. Shigeno. 1983. Effect of increasing dietary energy on hepatic lipogenesis in growing chicks I. Increasing energy by carbohydrate supplementation. **Poult. Sci.** 62: 445 – 451.
- Thayer, R.H., G.E. Hubbell, J.A. Kasbohm, R.D. Morrison and E.C. Nelson. 1974. Daily protein intake requirement of laying hens. **Poult. Sci.** 53: 354-364.
- Thompson, J.L. and M. Hinton. 1997. Antibacterial activity of formic and propionic acids in the diet of hens on salmonellas in the crops. **Br. Poult. Sci.** 38: 59-65.
- Tyler, C. and F.H. Geake. 1953. Studies on shells of ratite birds. **Proc. Zool. Soc. Lond.** 133: 201 – 243.

- Underwood, E.J. and N.F. Suttle. 1999. **The Mineral Nutrition of Livestock**. 3rd. CABI Publishing, UK.
- Van Kol, E. and Franklin. 2006. Feed acidifying-there is more than just lowering pH. **Feed & Livestock**. 3: 40-41.
- Van Weerden, E.J. and J.B. Schutte. 1983. DL- methionine and DL-methionine hydroxy analogue free acid in broiler diets. **Poult. Sci.** 62: 1269-1274.
- _____, J.B. Schutte and H.L. Bertram. 1984. Comparison of DL-methionine, DL-methionine-Na, DL-methionine hydroxyl analogue-Ca and DL-methionine hydroxyl analogue-free acid with layers. **Poult. Sci.** 63: 1793-1799.
- _____, H.L. Bertram and J.B. Schutte. 1982. Comparison DL-methionine, DL-methionine-Na, DL-methionine hydroxy analogue Ca and DL-methionine hydroxy analogue free acid in broiler by using a crystalline amino acid. **Poult. Sci.** 62: 1269.
- Waldroup, P.W., C.J. Mabray, J.R. Blackman, P.J. Slagter, R.J. Shor and Z.B. Johnson. 1981. Effectiveness of the free acid of methionine hydroxyl analogue as a methionine supplement in broiler diets. **Poult. Sci.** 60: 438-443.
- Wideman, F.R., C.F. Bonnie, M.L. Roland and D.F. Wise. 1993. Liquid methionine hydroxyl analog (free acid) and DL- methionine attenuate calcium – induced kidney damage in domestic fowl. **Poult. Sci.** 72: 1245-1258.
- Williams, K.C. 1992. Some factors affecting albumen quality with particular reference to haugh unit score. **World Poult. Sci. J.** 48: 5-16.
- Wolford, J.H. and K. Tanaka. 1970. Factors influencing egg shell quality: a review. **World Poult. Sci. J.** 26(4): 763 – 780.

- Yahav, S., A. Straschnow, I. Plavnik and S. Hurwitz. 1997. Blood system response of chickens to changes in enviromental temperature. **Poult. Sci.** 76: 627- 633.
- Zemal, M.B. 1988. Calcium utilization: Effect of varying level and source of dietary protein. **Am. J. Clin. Nutr.** 48: 880 – 883.
- Zhang, Y., D.R. Herro and C.M. Parsons. 1993. Effect of crystalline lysine and methionine intake on amino acid excretion by precision – fed cockerels. **Poult. Sci.** 72: 1180-1183.
- Zollitsch, W., Z. Cao, A. Peguri, B. Zhang, T. Cheng and C. Coon. n.d. **Nutrient Requirement of Laying Hens**. Available source: [http: // www. soyamex.com](http://www.soyamex.com), April 5, 2007.

ภาคผนวก

การคำนวณ

ปริมาณโปรตีนที่กินคิดจากโปรตีนในอาหาร รวมกับเมทไธโอนีนที่เติมลงไป

$$\begin{aligned}\text{ปริมาณเมทไธโอนีนในกลุ่ม DLM} &= 100 \% \times \text{ปริมาณ DLM ที่เติม} \\ \text{ปริมาณเมทไธโอนีนในกลุ่ม LMA} &= 88 \% \times \text{ปริมาณ LMA ที่เติม}\end{aligned}$$

ปริมาณเมทไธโอนีนที่กินคิดจากเมทไธโอนีนที่มีอยู่ในวัตถุดิบ รวมกับเมทไธโอนีนที่เติมลงไป

ประสิทธิภาพการเปลี่ยนแคลเซียมให้เป็นแคลเซียมในเปลือก (%)

$$= \{ [(\% \text{ แคลเซียม} \times \text{น้ำหนักเปลือก}) / 100] \times \% \text{ hen day} \} / \text{แคลเซียมที่กิน} \times 100$$

ประสิทธิภาพการเปลี่ยนฟอสฟอรัสให้เป็นฟอสฟอรัสในเปลือก (%)

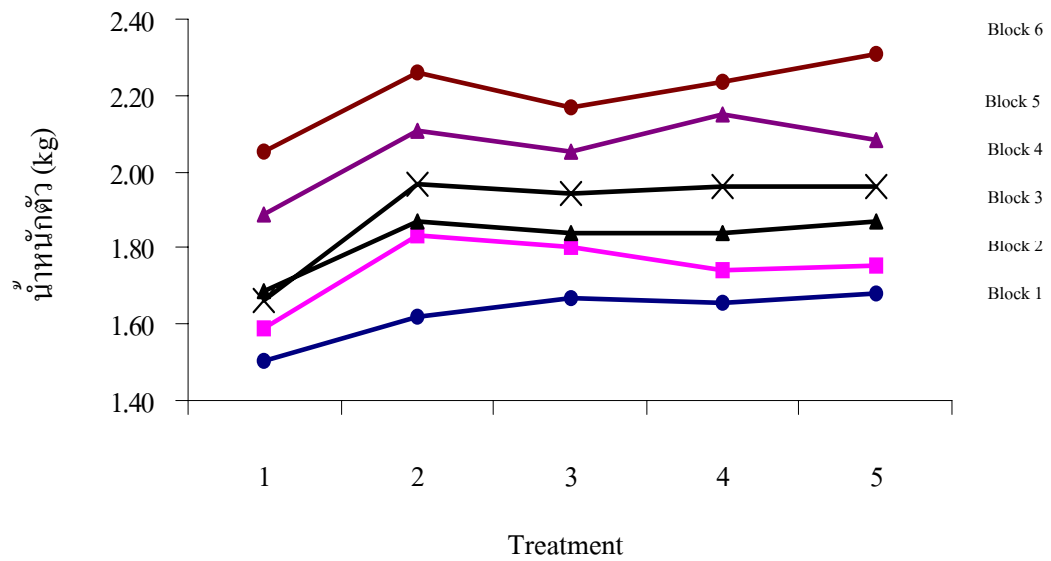
$$= \{ [(\% \text{ ฟอสฟอรัส} \times \text{น้ำหนักเปลือก}) / 100] \times \% \text{ hen day} \} / \text{ฟอสฟอรัสที่กิน} \times 100$$

ปริมาณแคลเซียมที่สะสมในร่างกาย

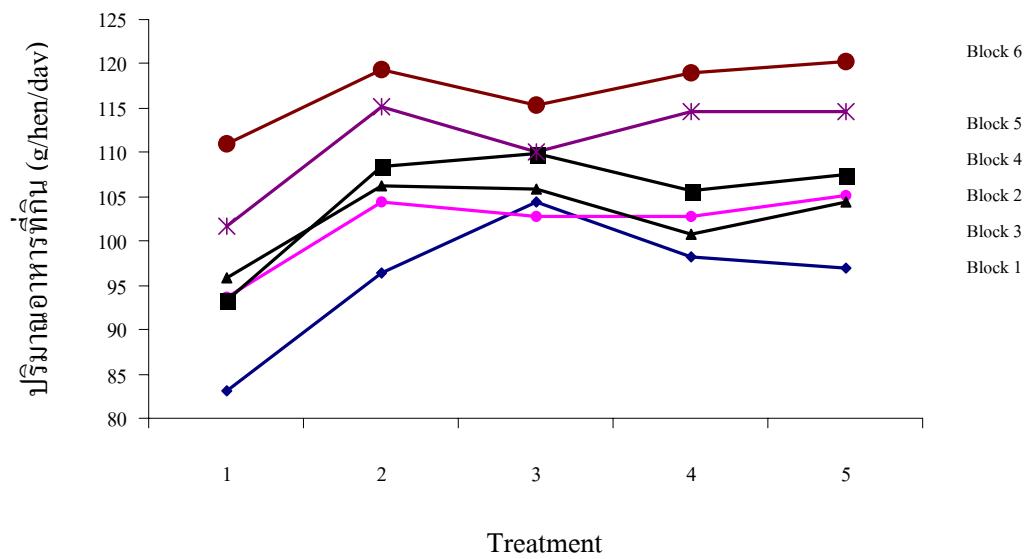
$$= [(\text{แคลเซียมที่กิน} - \text{แคลเซียมในมูล}) / \text{แคลเซียมที่กิน}] \times 100$$

ปริมาณฟอสฟอรัสที่สะสมในร่างกาย

$$= [(\text{ฟอสฟอรัสที่กิน} - \text{ฟอสฟอรัสในมูล}) / \text{ฟอสฟอรัสที่กิน}] \times 100$$



ภาพผนวกที่ 1 น้ำหนักตัวไก่เมื่อสิ้นสุดการทดลองโดยแสดงค่าเฉลี่ยแต่ละ Treatment ในแต่ละ Block



ภาพผนวกที่ 2 ปริมาณอาหารที่กินโดยแสดงค่าเฉลี่ยแต่ละ Treatment ในแต่ละ Block

การวิเคราะห์หาเอสตราไดออลโดยใช้ ^{125}I Radioimmunoassay

หลักการของ RIA จะใช้แอนติเจนที่มีกัมมันตรังสีมาจับกับแอนติบอดี แล้วทำให้คอมเพล็กซ์ ตกตะกอน แล้วนำตะกอนที่ได้ไปวัดปริมาณกัมมันตรังสี หลังจากนั้นก็ทำใหม่อีกครั้งโดยการเติมแอนติเจน (ซึ่งไม่มีกัมมันตรังสี) ที่ต้องการทราบปริมาณลงไป แอนติเจนนี้จะไปแย่งจับกับแอนติบอดี ทำให้มีปริมาณกัมมันตรังสีในตะกอนคอมเพล็กซ์น้อยลง ดังนั้นถ้ายังมีแอนติเจนมาก ปริมาณกัมมันตรังสีในตะกอนคอมเพล็กซ์ก็ยิ่งน้อย (มนตรี และคณะ, 2542)

วิเคราะห์หาปริมาณ Estradiol (estradiol – 17β , E_2) โดยใช้ DPC kit (Diagnostic Products Corporation Corporate offices, 5210 Pacific Concourse Drive Los Angeles, CA 90045 - 6900 USA) ตามหลักการของ radioimmunoassay (RIA) ใช้สารกัมมันตภาพรังสี คือ ^{125}I ซึ่งจะสามารแข่งขันกับ estradiol ในการจับกับแอนติบอดี

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่อง Gamma Counter ที่ใช้กับหลอดขนาด 12×75 มิลลิเมตร
2. เครื่อง Vortex mixer
3. เครื่อง Centrifuge ที่ควบคุมอุณหภูมิและความเร็วรอบ $3,000 \times g$
4. หลอด Polypropylene ขนาด 12×75 มิลลิเมตร
5. ไมโครปิเปต ขนาด 100 และ 1,000 ไมโครลิตร
6. ที่วางหลอดทดลองชนิดโฟม (Foam decanting rack)

วิธีการ

1. สารที่ใช้ทุกตัวต้องนำออกมาไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อนใช้
2. เขียนสัญลักษณ์ T คือ total counts และ NSB คือ non specific binding ไว้ที่หลอด uncoated และ A - G ที่ Ab - coated tubes
3. pipet 100 μl calibrator A ใส่ลงไปใน NSB และ A tube และ pipet B - G ลงไปตามลำดับ จากนั้น pipet control และ serum ลงไปในแต่ละ tube ที่เตรียมไว้ โดย pipet ลงไปที่ก้นหลอด ความเข้มข้นของ calibrators มีดังนี้

Calibrators	pg / ml
A	0
B	20
C	50
D	150
E	500
F	1800
G	3600

4. เติม 1.0 ml ของ ^{125}I ลงไปในทุกๆ หลอด
5. นำไปเขย่าโดยใช้ vortex
6. incubate เป็นเวลา 3 ชม. ที่อุณหภูมิห้อง
7. เทสารในหลอดออกให้หมด ยกเว้น T tube
8. นำไปนับโดยใช้ gamma counter เป็นเวลา 1 นาที นำไปคำนวณด้วยโปรแกรม GMS version 3.05 หรือสามารถนำไปคำนวณจากสูตร ดังนี้

การคำนวณผล

Percent bound	=	$\frac{\text{CPM (sample)} - \text{CPM (NSB)}}{\text{CPM (0 pg/ ml)} - \text{CPM (NSB)}} \times 100$
CPM	=	จำนวนที่นับได้ใน 1 นาที
Sample	=	Serum
NSB	=	Non specific binding tube คือหลอดที่ไม่มีแอนติบอดี

นำค่าที่ได้ไป plot ใน logit - log graph โดย plot percent bound ที่แกน y และค่าความเข้มข้นไว้ที่แกน X ถลากเส้นตรงผ่านจุดเหล่านี้ นำค่าที่นับได้จาก sample เข้าไปหาค่าความเข้มข้นจากกราฟ

วิธีการวัดค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH)

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 ดังนั้นที่ความเป็นกลาง (H^+) = (OH^-) = 10^{-7} ค่าของ pH จะออกมาในรูปลอการิทึม คือ $pH = -\log (H^+)$

เครื่องมือและอุปกรณ์

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

สารเคมี

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

วิธีการวิเคราะห์

1. สอบเทียบเครื่อง pH meter ก่อนทำการวัดความเป็นกรด - ด่างทุกครั้ง
2. ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง (อาหาร มูล และ Digesta) ที่ต้องการวัดค่าความเป็นกรด - ด่าง ใน กระปุก
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 ต้องล้างหัวอิเล็กโทรดด้วยน้ำกลั่น Deionize ใช้กระดาษทิชชูซับน้ำ ออก แต่ไม่ควรเช็ดอิเล็กโทรดให้แห้ง เพราะอาจทำให้เกิดไฟฟ้าสถิตย์ที่ผิวของอิเล็กโทรด

การสอบเทียบเครื่อง pH

1. สอบเทียบโดยใช้สารละลายมาตรฐาน 2 จุด คือ pH 7.0 และ 4.01
2. ล้างหัวอิเล็กโทรดด้วยน้ำกลั่น Deionize ใช้กระดาษทิชชูซับน้ำออก แต่ไม่ควรเช็ด อิเล็กโทรด
3. จุ่มอิเล็กโทรดในสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน pH 7.0 แล้วปรับค่าให้ตรงกับสารละลาย บัฟเฟอร์มาตรฐาน
4. จากนั้นล้างหัวอิเล็กโทรดให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น Deionize ใช้กระดาษทิชชูซับน้ำออก
5. จุ่มอิเล็กโทรดในสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน pH 4.01 แล้วปรับค่าให้ตรงกับสารละลาย บัฟเฟอร์มาตรฐาน
6. ล้างหัวอิเล็กโทรดให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น Deionize ระหว่างที่รอวัดค่าให้จุ่มหัวอิเล็กโทรด ไว้ในบีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่น Deionize อยู่

วิธีการหาค่าฮีมาโตคริต (Hematocrit Measurement)

ค่า Hematocrit (HCT) หรือ volume of packed red cells (VPRC) หรือ packed cell volume (PCV) คือ ค่าเปอร์เซ็นต์สัมพันธ์ของปริมาตรเม็ดเลือดแดงในเลือดต่อปริมาตรเลือดทั้งหมด ที่ได้จากการคำนวณสัดส่วนระหว่างปริมาตรเป็นมิลลิลิตรของเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Packed red blood cells) ต่อปริมาตร เป็นมิลลิลิตรทั้งหมดของตัวอย่างเลือด มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ ค่าดังกล่าวเป็นดัชนีแสดงถึงความเข้มข้นของเม็ดเลือดแดงในเลือด การหาค่า Hematocrit อาจทำได้ 2 วิธี คือ

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

หลักการ

แรงหมุนเหวี่ยงของเครื่องปั่น (Centrifuge) สามารถแยกส่วนต่างๆ ของเลือดออกจากกันตามความแตกต่างของน้ำหนัก เซลล์เม็ดเลือดและเกล็ดเลือดมีความหนาแน่นสูงกว่า จึงแยกออกจากชั้นของพลาสมาแล้วเคลื่อนลงสู่ก้นหลอด (ทิศทางเข้าสู่แกนกลางของเครื่องปั่น) เม็ดเลือดแดงมีขนาดเล็กกว่าสามารถผ่านลงสู่ก้นหลอดและอัดแน่นอยู่ล่างสุด เม็ดเลือดขาว เกล็ดเลือด และเม็ดเลือดแดงที่มีนิวเคลียส กระจุกรวมเป็นชั้นเรียกว่า buffy coat อยู่เหนือเม็ดเลือดแดงอัดแน่น และชั้นบนสุดคือพลาสมาเป็นของเหลวสีเหลือง

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. หลอด Heparinized capillary
2. หลอดใส่เลือดที่เคลือบสาร Heparinized
3. ดินน้ำมัน
4. เครื่อง Hematocrit centrifuge
5. เครื่อง Microhematocrit Reader

วิธีการวิเคราะห์แบบ Micro – hematocrit

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

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวญาณิศา รัชดาภรณ์วานิช
วัน เดือน ปี ที่เกิด	8 พฤศจิกายน 2517
สถานที่เกิด	กรุงเทพฯ
ประวัติการศึกษา	ปริญญาตรีมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	นักวิชาการสัตวบาล 5
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-