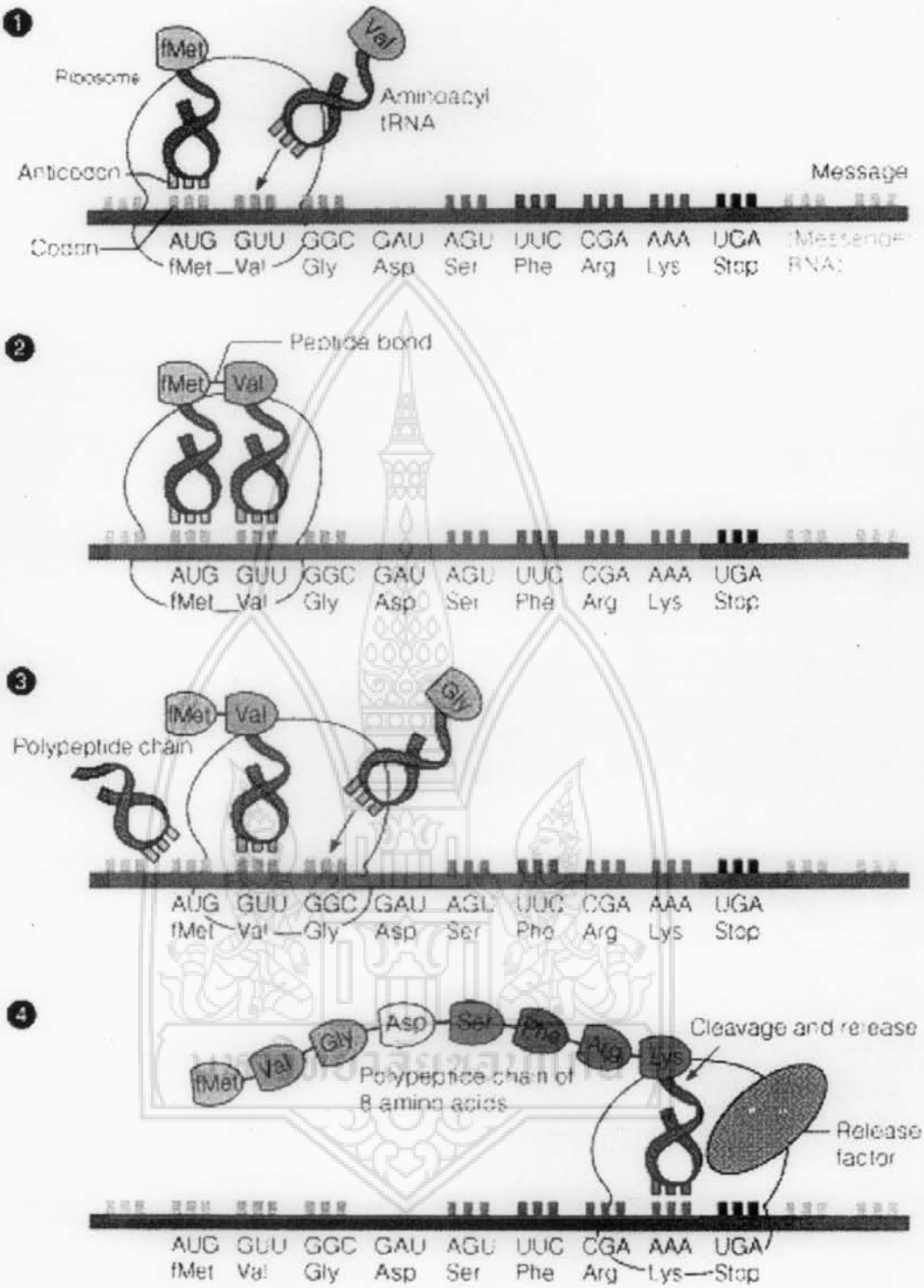
บทที่ 2

การทบทวนเอกสาร

2.1 กระบวนการสังเคราะห์โปรตีน

กรดอะมิโนแต่ละชนิดที่ดูดซึมเข้าสู่เซลล์ จะนำไปสังเคราะห์เป็นโปรตีน โดยกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน (protein synthesis) ซึ่งเป็นกระบวนการสร้างโมเลกุลให้ใหญ่ขึ้น (macromolecule) โดยนำหน่วยการสร้าง (Building block) คือ กรดอะมิโนแต่ละชนิดมาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเปปไทด์ (peptide bond) ได้เป็นสายเปปไทด์ และมีการดัดแปลง หรือต่อเติมโมเลกุล เพื่อให้สามารถทำงานได้ โปรตีนแต่ละชนิดที่สังเคราะห์ขึ้น มีการเรียงลำดับเบสของกรดอะมิโนเป็นแบบเฉพาะตัว ซึ่งกำหนดโดยลำดับของเบสบนสายเอ็มอาร์เอ็นเอ (mRNA) และถอดรหัสมาจากลำดับเบสของยีน (gene) บนสายดีเอ็นเอ กระบวนการสังเคราะห์โปรตีน เริ่มต้นด้วยการสังเคราะห์อาร์เอ็นเอ (RNA) ในนิวเคลียส จากการถอดรหัส (transcription) ดีเอ็นเอ โดยอาศัยเอ็นไซม์อาร์เอ็นเอโพลิเมอเรส (RNA Polymerase) หลังจากนั้นเอ็มอาร์เอ็นเอ (mRNA) จะส่งมาแปลงรหัส (Translation) ที่ไรโบโซมในไซโตพลาสซึม เพื่อเชื่อมต่อกรดอะมิโนแต่ละชนิดด้วยพันธะเปปไทด์ ตามลำดับเบสบนสายเอ็มอาร์เอ็นเอ (mRNA) เมื่อเติมกรดอะมิโนตัวสุดท้าย ครบแล้ว จะมีการเติมรหัสยุติ (UAA, UAG, UGA) กระบวนการสังเคราะห์โปรตีนจึงสิ้นสุดลง ดังแสดงในภาพที่ 2-1 (Murray et al., 2000) การสังเคราะห์โปรตีนขึ้นอยู่กับระดับของโปรตีน และสัดส่วนของกรดอะมิโนที่จำเป็นในอาหาร (NRC, 1988; NRC, 1998; Coffee, 1999) หากอาหารมีระดับของโปรตีน และกรดอะมิโนที่จำเป็นตรงตามความต้องการของสุกร จะทำให้สุกรนำกรดอะมิโนไปใช้ สำหรับการสังเคราะห์โปรตีนได้อย่างมีประสิทธิภาพ ส่งผลให้มีการสูญเสียไนโตรเจนออกทางปัสสาวะต่ำ ทำให้สุกรมีการสะสมโปรตีนในร่างกายสูง (Wang and Fuller, 1989; Chung and Baker, 1992b; NRC, 1998) เมทไธโอนีนและไลซีนเป็นกรดอะมิโนที่มีความสำคัญ สำหรับกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน เนื่องจากเมทไธโอนีนเป็นกรดอะมิโนตัวแรกที่ใช้สำหรับเป็นตัวเริ่มต้นการสังเคราะห์โปรตีน (Murray et al., 2000; Nelson and Cox, 2000) ดังนั้นปริมาณเมทไธโอนีนที่น้อยหรือมากเกินไป จึงมีผลกระทบต่อความสมดุลของกรดอะมิโนชนิดอื่นๆ การขาดเมทไธโอนีนจะส่งผลให้ความสมดุลไนโตรเจน ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และอัตราการเจริญเติบโตลดลง (Balogun and Fetuga, 1981) ทั้งนี้เนื่องจากการขาดเมทไธโอนีนจะทำให้การสังเคราะห์โปรตีนหยุดชะงัก ทำให้จำนวนโปรตีนที่สังเคราะห์มีปริมาณลดลงตามระดับเมทไธโอนีน (Nelson and Cox, 2000) ปริมาณเมทไธโอนีนในอาหารที่มีมากเกินความต้องการของสุกร ซึ่งเกิดจากความไม่สมดุลของกรดอะมิโนในอาหาร (Edmond and Baker, 1987)



ภาพที่ 2-1 แสดงกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน

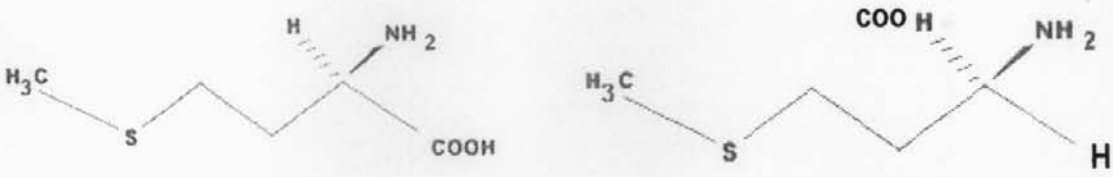
ที่มา : Murray et al. (2000)

จะส่งผลทำให้เกิดพิษต่อร่างกายสุกร ทำให้การสังเคราะห์โปรตีนที่ได้ เพื่อใช้สำหรับกระบวนเจริญเติบโต เปลี่ยนไป ร่างกายสุกรต้องนำกรดอะมิโนไปสังเคราะห์โปรตีนเพื่อรักษาเซลล์โครงสร้างของร่างกาย และซ่อมแซมเซลล์ที่ถูกทำลายจากการเกิดพิษของเมทไธโอนีน เพื่อการขับกรดอะมิโนเมทไธโอนีนส่วนที่เกินมา (Mitchell et al., 1968) นอกจากนี้ความต้องการเมทไธโอนีน ยังขึ้นอยู่กับความสามารถในการสร้างกล้ามเนื้อ (lean growth potential) ของสุกร ซึ่งในปัจจุบันมีการปรับปรุงสายพันธุ์สุกร ให้มีความสามารถในการสร้างเนื้อแดงในปริมาณที่สูงขึ้น ทำให้สุกรมีความต้องการสัดส่วนเมทไธโอนีนเพิ่มขึ้น (Lougmiller et al., 1998; Urynek and Buraczewska, 2003) จึงทำให้ในกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน ต้องใช้กรดอะมิโนชนิดอื่น ๆ เพิ่มขึ้นตามด้วย และไลซีน เป็นกรดอะมิโนที่พบเป็นองค์ประกอบของโครงสร้างโปรตีนในเนื้อแดงของสุกรในปริมาณที่สูง จึงทำให้สุกรมีความต้องการปริมาณที่สูง เพื่อนำไปสังเคราะห์โปรตีน สำหรับการเจริญเติบโต โดยเฉพาะในกระบวนการสร้างเนื้อแดง ดังนั้นในการประกอบสูตรอาหาร จึงต้องคำนึงถึงปริมาณเมทไธโอนีนและไลซีนในอาหาร และสมดุลของกรดอะมิโนให้เพียงพอกับความต้องการของสุกร

2.2 ความสำคัญของเมทไธโอนีน

2.2.1 คุณสมบัติและบทบาทของเมทไธโอนีน

กรดอะมิโนเมทไธโอนีนมีโครงสร้างประกอบด้วยหมู่คาร์บอกซิล (carboxyl group, -COOH) หมู่อะมิโน (amino group, -NH2) อะตอมไฮโดรเจน (hydrogen atom, -H) หมู่อาร์ (R-group) และมีกำมะถัน (sulfur) เป็นส่วนประกอบของโครงสร้าง (Mathews et al., 2000) เมทไธโอนีนเป็นกรดอะมิโนที่หมู่อาร์ไม่มีขั้ว ไม่สามารถให้หรือรับโปรตอนได้ จึงไม่สามารถสร้างพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) และพันธะไอออนิกได้ และซ่อนในโมเลกุลของโปรตีน (ARC, 1981; Horton et al., 1996; Mathews et al., 2000)



D-Methionine L-Methionine

ภาพที่ 2-2 สูตรโครงสร้างของดี-เมทไธโอนีน และแอล-เมทไธโอนีน

ที่มา: Murray et al. (2000)

โดยธรรมชาติจะสามารถพบเมทไธโอนีนในรูปแอล-เมทไธโอนีน สำหรับอุตสาหกรรมการผลิตกรดอะมิโนสังเคราะห์ สามารถผลิตได้ทั้งในรูป ดี และแอล-เมทไธโอนีน (ภาพที่ 2-2) ในอัตราส่วนที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งสุกรสามารถใช้ประโยชน์ได้ดีทั้งในรูป ดีและแอล เมทไธโอนีน เมทไธโอนีนทำหน้าที่เป็นตัวแรกในการเปิดสายเปปไทด์ของกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน (Horton et al., 2002) นอกจากนี้ยังทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้น หรือส่วนประกอบสำหรับโฮโมซีสเตอีน (homocysteine) ซีสตีน (cystine) คาร์นิทีน (carnitine) ครีเอทีน (creatine) และโคลีน (choline) (Murray et al., 2000)

เมทไธโอนีนจัดอยู่ในกลุ่มของกรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acid) วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่นำมาประกอบสูตรอาหารสำหรับสุกร ส่วนใหญ่จะขาดความสมดุลของ กรดอะมิโนซึ่งพบเมทไธโอนีนในปริมาณที่น้อย จึงจำเป็นต้องมีการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ ในรูปของดีแอล-เมทไธโอนีน เมทไธโอนีนจากโครงสร้างโปรตีนของวัตถุดิบอาหาร และ ดีแอล-เมทไธโอนีนสังเคราะห์ จะต้องผ่านกระบวนการแคแทบอลิซึม และแอนาบอลิซึมของร่างกายสุกรก่อน จึงจะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ (Montgomery et al., 1990; Methew et al., 2000) เมทไธโอนีนที่สัตว์ได้รับจะมีทั้งส่วนของเมทไธโอนีนอิสระ และที่เป็นส่วนประกอบในโครงสร้างโปรตีนเมื่อสัตว์ได้รับโปรตีนจะเกิดกระบวนการย่อยเกิดขึ้น โดยเริ่มต้นกระบวนการย่อยที่กระเพาะอาหาร มีเอ็นไซม์เปปซิโนเจน (pepsinogen) และไคโมซิโนเจน (chymosinogen) เป็นเอ็นไซม์สำหรับการย่อยโปรตีน นอกจากนี้ยังอาจถูกย่อยด้วยกรดเกลือ (HCl) โดยกระบวนการไฮโดรไลซิส (hydrolysis)

2.2.2 บทบาทของกรดอะมิโนเมทไธโอนีนต่อการสังเคราะห์โปรตีน

เมทไธโอนีนเป็นตัวเริ่มต้นในกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน ซึ่งกรดอะมิโนเมทไธโอนีนจะอยู่ในรูปของ ฟอร์มิลเมทไธโอนีน (fMet) โดยมี ทีอาร์เอ็นเอ ของฟอร์มิลเมทไธโอนีน (tRNA f Met) เป็นตัวพาเข้าไปยังไรโบโซม ในรูป เอ็น–ฟอร์มิลเมทไธโอนีน–ทีอาร์เอ็นเอ ของฟอร์มิลเมทไธโอนีน (N–formylmethionyl– tRNA f Met หรือเขียนย่อโดย f Met–tRNA f Met) ขั้นตอนการเกิด เอ็น–ฟอร์มิลเมทไธโอนีน–ทีอาร์เอ็นเอ ของ ฟอร์มิลเมทไธโอนีน คือ เมทไธโอนีนเข้าจับกับ ทีอาร์เอ็นเอของฟอร์มิลเมทไธโอนีน (tRNA f Met) ก่อน โดยอาศัยการทำงานของเอ็นไซม์เมทไธโอนีนอะมิโนอะซิล–ทีอาร์เอ็นเอซินเธซิส (methionine aminoacyl tRNA synthesis) ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้

$$\text{Met} + \text{tRNA f Met} + \text{ATP} \longrightarrow \text{Met} + \text{tRNA f Met} + \text{AMP} + \text{PPi}$$

หลังจากได้ เอ็น–เมทไธโอนิล–ทีอาร์เอ็นเอ ของฟอร์มิลเมทไธโอนีน (tRNA f Met) แล้วเอ็นไซม์ทรานส์ฟอร์มิเลส (transformylase) จะทำหน้าที่ย้ายหมู่ฟอร์มิล จากเอ็นเทน–ฟอร์มิลเตตระไฮโดรโฟเลท (N10–formyltetrahydrofolate) หรือ (N10–formyl–FN4) มาให้หมู่อะมิโนของเมทไธโอนีน ใน เอ็น–เมทไธโอนิล–ทีอาร์เอ็นเอ ได้เป็น เอ็น–ฟอร์มิลเมทไธโอนีน–ทีอาร์เอ็นเอ ของ ฟอร์มิล เมทไธโอนีน ดังนี้

$$\text{N10} - \text{Formyl} - \text{FN4} + \text{Met} + \text{tRNA f Met} \longrightarrow \text{FN4} + \text{f Met - tRNA f Met}$$

เอ็นไซม์รานส์ฟอร์มิเลส มีความจำเพาะสูงมาก จะไม่เติมหมู่ฟอร์มิลให้แก่เมทไธโอนีนอิสระ แต่จะเติมให้ เอ็น–เมทไธโอนิล–ทีอาร์เอ็นเอ ของฟอร์มิลเมทไธโอนีน เท่านั้น ฉะนั้นในเซลล์พวกโปรคาริโอตมีทีอาร์เอ็นเอ สำหรับเมทไธโอนีนอยู่ 2 ชนิด คือ ทีอาร์เอ็นเอของ ฟอร์มิลเมทไธโอนีน (tRNA f Met) และ ทีอาร์เอ็นเอของเมทไธโอนีน (tRNA Met) โดยทั้งคู่สามารถจับกับเมทไธโอนีนได้ แต่มีเฉพาะ เอ็น–เมทไธโอนิล–ทีอาร์เอ็นเอ ของ ฟอร์มิลเมทไธโอนีน เท่านั้นที่จะถูกเปลี่ยนเป็น เอ็น–ฟอร์มิลเมทไธโอนีน–ทีอาร์เอ็นเอ ของ ฟอร์มิลเมทไธโอนีน ซึ่งเป็น กรดอะมิโนเริ่มต้นในการสังเคราะห์โปรตีน ส่วนทีอาร์เอ็นเอของ เมทไธโอนีนมีเพื่อพาเมทไธโอนีนเข้าไปยังตำแหน่งในสายโพลีเปปไทด์ (Lehninger, 1982; Montgomery et al., 1990)

รูปแบบของเมทไธโอนีน สำหรับเริ่มต้นสังเคราะห์โปรตีนบริเวณไซโตพลาสซึมในยูคาริโอต คือ เอ็น–เมทไธโอนิล–ทีอาร์เอ็นเอ ของ ฟอร์มิลเมทไธโอนีน ส่วนโปรตีนที่สร้างขึ้น

ในไมโตคอนเดรีย และ คลอโรพลาสของเซลล์ยูคาริโอต มีกรดอะมิโนเริ่มต้นเป็น เอ็นเมทไธโอนิล–ทีอาร์เอ็นเอ ของ ฟอร์มิลเมทไธโอนีน จับที่บริเวณตำแหน่ง P (peptidyl site) ส่วน อะมิโนอะซิล– ทีอาร์เอ็นเอ (aminoacyl–tRNA) อื่นๆ จับที่ตำแหน่ง A (aminoacyl site) จากนั้นจะมีการเพิ่มความยาวของสายโพลีเปปไทด์ โดยการเติมกรดอะมิโนชนิดต่างๆ เพื่อให้สายโพลีเปปไทด์ยาวขึ้น ซึ่งหากสายโพลีเปปไทด์มีรหัสของกรดอะมิโนชนิดใดมาก ก็ต้องการกรดอะมิโนชนิดนั้นมากขึ้นตามลำดับ (Davlin, 1997)

2.2.3 ความสัมพันธ์ระหว่างเมทไธโอนีนและสารชนิดอื่นๆ

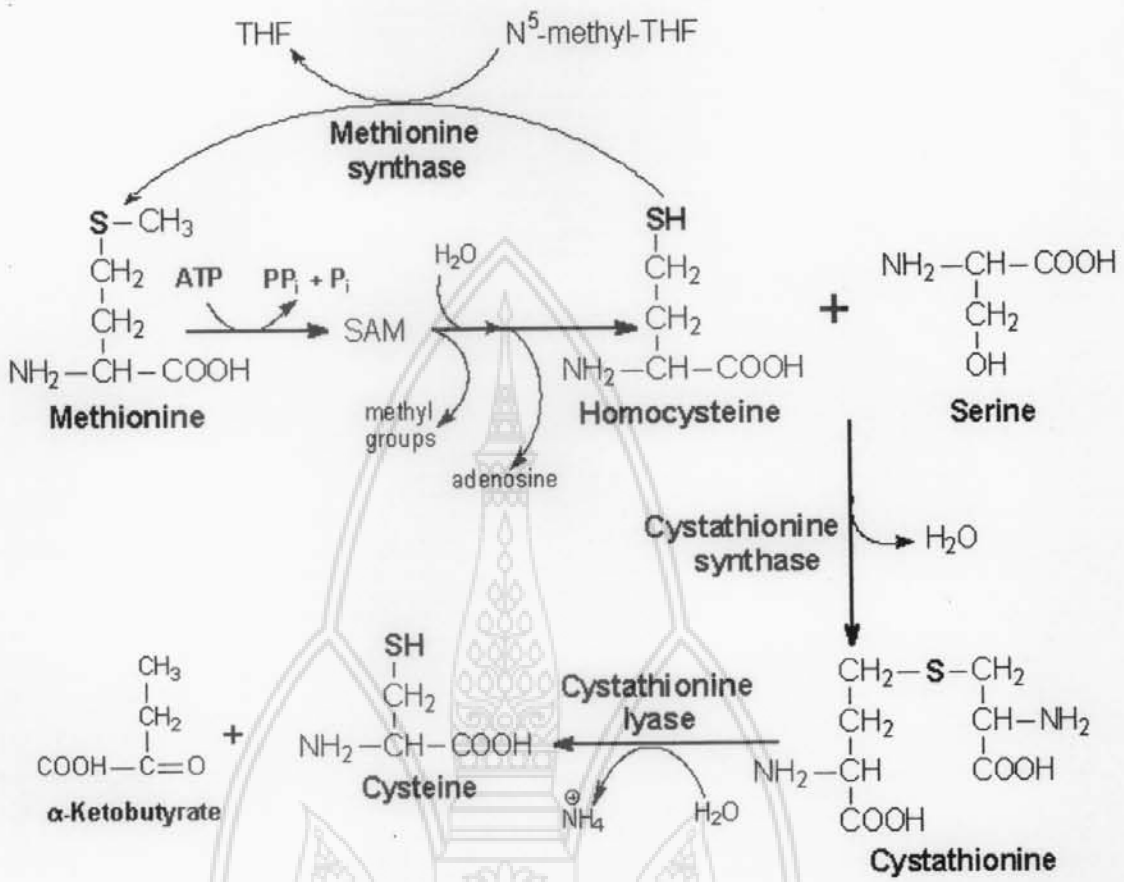
เมทไธโอนีนสามารถเปลี่ยนเป็นสารชนิดอื่น ๆ ได้ เช่น ซีสเตอีน หรือ ทอรีน โดยอาศัย โคเอ็นไซม์ คือ วิตามิน บี 6 เข้าช่วย อาหารที่มีเมทไธโอนีนสูง แต่มีวิตามิน บี 6 ต่ำ มีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคไขมันอุดตันในเส้นเลือด พิษของเมทไธโอนีนที่เกิดตามมา คือ เนื้อเยื่อของไตเจริญมากเกินไป ทำให้มีการขยายของท่อกรวยไตเกิดแผลที่เซลล์ของตับ และตับอ่อน มีปริมาณโฮโมซีสเตอีนในเลือด และปัสสาวะสูง เนื่องจากความผิดปกติของกระบวนการเมแทบอลิซึมของเมทไธโอนีน โดยความล้มเหลวของเอ็นไซม์ซีสตะไธโอนีนซินเทส ซึ่งเอ็นไซม์นี้ต้องอาศัยวิตามิน บี 6 เป็นโคแฟกเตอร์ นอกจากนี้ยังมีความผิดปกติที่ตามมา คือ เกิดลิ่มเลือด การพัฒนาของสมองช้า ซึ่งการบรรเทาพิษของเมทไธโอนีนทำได้โดย ประกอบสูตรอาหารให้มีวิตามิน บี 6 เพียงพอ และกรดอะมิโนไกลซีน และ เซอรีน เพียงพอ เนื่องจากกรดอะมิโนทั้ง 2 มีส่วนช่วยในการเปลี่ยนโฮโมซีสเตอีน เป็นซีสตะไธโอนีน

เมทไธโอนีน ซีสเตอีน ซีสตีน ทอรีน และกลูตาไทโอน มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบของโครงสร้าง ซึ่งกรดอะมิโนเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการฆ่าเชื้อโรคในกระแสเลือด ป้องกันแบคทีเรีย กระตุ้นการหลั่งน้ำดีจากตับ และต่อต้านการสร้างสารพิษ (Murray et al., 2000) เมทไธโอนีนเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ ซีสเตอีนแต่ซีสเตอีนไม่สามารถสังเคราะห์เมทไธโอนีนได้ โดยเมทไธโอนีนจะเปลี่ยนเป็น ซัลเฟอร์-อะดีโนซิลเมทไธโอนีน ซึ่งจะต้องใช้พลังงานในรูป อะดีโนซีน ไตรฟอสเฟต (adenosine triphosphate, ATP) ช่วยในการย่อยสลาย ทำหน้าที่ให้หมู่เมธิล กับปฏิกิริยาต่าง ๆ เกิดเป็น ซัลเฟอร์ – อะดีโนซิล โฮโมซีสเตอีน สลายให้ โฮโม-ซีสเตอีน รวมกับเซอรีนเป็นซีสตะไธโอนีน การสลายซีสตะไธโอนีนได้ซีสเตอีน และ แอลฟา-คีโตบิวทิเรต ซึ่งแอลฟา-คีโตบิวทิเรต จากโครงสร้างคาร์บอนของเมทไธโอนีนเปลี่ยนไปเป็นโพรพิโอนิล โค เอ, เมทธิลมาโลนิล โค เอ และซักซินิล โค เอ ตามลำดับ แล้วเข้าสู่วัฏจักรเครบส์ต่อไป ส่วนซีสเตอีน จะเกิดจากโครงสร้างคาร์บอนของเซอรีน และอะตอมของกำมะถันจากเมทไธโอนีน ดังแสดงในภาพที่ 2-3 ซีสเตอีน 2 โมเลกุลซึ่งมีหมู่ซัลไฮดริล (sulhydryl group, -SH) เมื่อถูกออกซิไดส์เกิดเป็นซีสตีน โดยมีพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bond)

เชื่อมโยงโมเลกุลทั้ง 2 ของซีสเตอีนไว้ นอกจากนี้เมทไธโอนีน และซีสตีน ยังมีผลช่วยในการลดความเป็นพิษของโคบอลท์ ซึ่งช่วยลดการสะสมของโคบอลท์ที่ตับและไต (Southern and Baker, 1981) และเมทไธโอนีนยังช่วยบรรเทาความเป็นพิษที่เกิดขึ้นจากตะกั่วได้ โดยเมทไธโอนีนจะเป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตกลูตาไทโอน โดยกลูตาไทโอนจะลดความเป็นพิษในตับลง ส่วนซีสเตอีนเป็นสารตั้งต้นในการสร้างทอรีน ซึ่งจะเป็นส่วนประกอบสำคัญของกรดน้ำดี

2.2.4 ระดับเมทไธโอนีนที่แนะนำในอาหารสุกรขุน

อาหารที่มีกรดอะมิโนเมทไธโอนีนไม่เพียงพอ ทำให้ความเข้มข้นของโปรตีนในซีรั่มลดลง เพิ่มการสะสมของไขมันในตับ การสังเคราะห์น้ำย่อย ฮอร์โมน และการสังเคราะห์โปรตีนลดลง และทำให้สุกรมีอัตราการเจริญเติบโตไม่เต็มประสิทธิภาพ นอกจากนี้ยังพบว่าโปรตีนในอาหารที่มีปริมาณ และสัดส่วนของกรดอะมิโนเมทไธโอนีนมากเกินความต้องการของสุกร ก็จะทำให้เกิดการแข่งขันกับกรดอะมิโนไลซีน กรดอะมิโนอาร์จินีน และคาร์นิทีนในกระบวนการดูดซึมด้วย เมื่อปริมาณเมทไธโอนีนที่ดูดซึมเข้าสู่เซลล์มีมากเกินความต้องการ ส่งผลทำให้สุกรไม่สามารถดูดซึมกรดอะมิโนไลซีน กรดอะมิโนอาร์จินีน และคาร์นิทีน ได้เพียงพอต่อความต้องการของสุกรได้ (Nelson and Cox, 2000) ซึ่ง NRC (1998) อธิบายว่า สุกรน้ำหนัก 50–80 กิโลกรัมมีความต้องการกรดอะมิโนเมทไธโอนีนที่ย่อยได้จริงวันละ 4.60 กรัมต่อวัน คิดเป็นร้อยละ 0.18 ของอาหาร และมีความต้องการโปรตีนในอาหารร้อยละ 15.50 เมทไธโอนีนรวมกับซีสตีนที่ย่อยได้จริงวันละ 10 กรัมต่อวัน คิดเป็นร้อยละ 0.39 ของอาหาร ส่วน ARC (1981) รายงานว่าสุกรขุนที่น้ำหนัก 50-90 กิโลกรัม มีความต้องการโปรตีน 8.60 กรัมต่อเมกะจูลของพลังงานที่ย่อยได้ และต้องการกรดอะมิโนเมทไธโอนีนรวมซีสตีน 0.30 กรัมต่อเมกะจูลของพลังงานที่ย่อยได้ และหลายสิบปีที่ผ่านมามีรายงาน การศึกษาสมรรถนะการเจริญเติบโตของสุกรที่ระยะน้ำหนัก 53-110 กิโลกรัม พบว่าระดับกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ ในสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับสุกร มีค่าผันแปรอยู่ระหว่างร้อยละ 0.35–0.45 ซึ่งมีกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบที่ย่อยได้อยู่ระหว่าง ร้อยละ 0.27–0.39 โดยมีผลให้อัตราการเจริญเติบโตอยู่ระหว่างที่ 750-990 กรัมต่อตัวต่อวัน น้ำหนักตัวที่เพิ่มต่อปริมาณอาหารที่กินอยู่ระหว่าง 260-360 กรัมต่อกิโลกรัม ดังแสดงในตารางที่ 2-1 (Chung et al., 1989; Roth et al., 2000; Loughmiller et al., 1998; Knowles et al., 1998)



ภาพที่ 2-3 วิถีการสังเคราะห์ซีสเตอีนโดยมีเมทไธโอนีนเป็นสารตั้งต้น

ที่มา : Murray et al. (2000)

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ตารางที่ 2-1 แสดงสมรรถนะการเจริญเติบโตของสุกร ที่ได้รับกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบในอาหาร

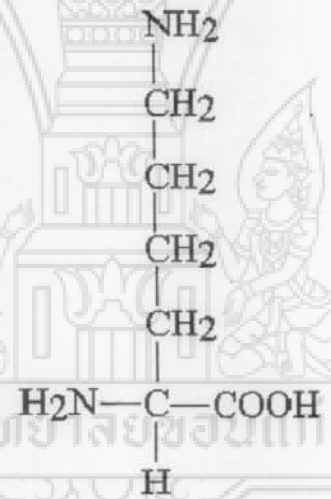
Citation	Body Weight		Performance		SAA Requirement	
	Initial, kg	Final, kg	ADG, g	G/F	Total, %	Dig, %
Schutte et el., 1991 (Exp. 1)	13	38	440	0.43	0.65	0.52
Schutte et el., 1991 (Exp. 2)	14	38	642	0.52	0.64	0.58
Leibholz, 1984	21	35	505	0.37	0.41	0.35
Kirchgessner et al., 1994	20	60	699	0.47	0.52	0.44
Roth and Kirchgessner, 1987	31	60	757	0.44	0.53	0.46
Lenis et al., 1990 (Boars)	35	65	835	0.42	0.57	0.46
Lenis et al., 1990 (Gilts)	35	60	847	0.41	0.54	0.43
Chung et al., 1989	53	75	990	0.36	0.66	0.40
Roth et al., 2000 (Lys = 0.62)	53	105	750	0.32	0.35	0.27
Roth et al., 2000 (Lys = 0.70)	53	105	837	0.34	0.41	0.34
Roth et al., 2000 (Lys = 0.78)	53	105	865	0.35	0.45	0.36
Loughmiller et al., 1998 (Exp.1)	54	108	890	0.26	0.44	0.39
Loughmiller et al., 1998 (Exp.3)	54	108	890	0.26	0.44	0.39
Knowles et al., 1998	74	110	780	0.21	0.29	0.26

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

2.3 ความสำคัญของไลซีน

2.3.1 คุณสมบัติและบทบาทของไลซีน

ไลซีนประกอบด้วย หมู่คาร์บอกซิล (carboxyl group,-COOH) หมู่อะมิโน (amino group,-NH2) อะตอมของไฮโดรเจน (hydrogen atom, -H) และหมู่อาร์ (R-group) ไม่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ ดังแสดงในภาพที่ 2-5 สามารถรับโปรตอนได้ที่ pH เป็นกลาง จัดอยู่ในกลุ่มกรดอะมิโนชนิดเป็นเบส ซึ่งหมู่อาร์ของไลซีนจะมีประจุบวก เมื่อ pH ของสารละลายต่ำกว่าค่า pKa ของไลซีน (ARC, 1981; Horton et al., 1996; Mathews et al., 2000) ไลซีนมีบทบาทสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน และเมทาบอลิซึมของร่างกายสุกร เป็นกรดอะมิโนตัวตั้งต้นสำหรับการผลิตเอ็นไซม์ ฮอร์โมน และสร้างระบบภูมิคุ้มกัน นอกจากนี้ ไลซีนยังมีบทบาทต่อกระบวนการสร้างการเจริญเติบโตของกระดูก กระดูกอ่อน และกล้ามเนื้อ ช่วยในการดูดซึมแคลเซียม และรักษาสมดุลของแคลเซียมในกระดูก ซ่อมแซมรักษาบาดแผลให้หายได้เร็ว และเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารชนิดอื่น ๆ ในกระบวนการสลายไขมัน เพื่อให้ได้พลังงาน (Horton et al., 1996; Mathews et al., 2000)



ภาพที่ 2-4 สูตรโครงสร้างของแอล-ไลซีน

ที่มา : Mathew et al. (2000)

2.3.2 บทบาทของไลซีนต่อการสังเคราะห์โปรตีน

ไลซีนมีความสำคัญในการสังเคราะห์โปรตีนชนิดต่าง ๆ มากมาย และต้องการในสัดส่วนและปริมาณที่สูงมากเมื่อเทียบกับกรดอะมิโนชนิดอื่น ๆ เป็นส่วนประกอบของเอ็นไซม์หลายตัว เป็นสารตั้งต้นสำหรับสร้างสารชนิดอื่น ๆ ซึ่งสามารถพบกรดอะมิโนไลซีนในส่วนประกอบของ

เนื้อเยื่อเกือบทุกชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการสร้างคอลลาเจน เป็นส่วนประกอบนิวคลีโอไทด์ที่อยู่ในนิวเคลียสของเซลล์ และเป็นส่วนประกอบที่สูงในโครงสร้างของโปรตีนกล้ามเนื้อ (มีกรดอะมิโนไลซีน 70 กรัมต่อกิโลกรัมกล้ามเนื้อ) เมื่อเทียบกับกรดอะมิโนชนิดอื่น ๆ (ดังแสดงในตารางที่ 2-2) ซึ่งสุกรระยะรุ่น-ขุน เป็นระยะที่มีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นสูง จึงต้องการกรดอะมิโนแต่ละชนิดเป็นสัดส่วนที่เพิ่มขึ้น สำหรับการสังเคราะห์โปรตีน การแบ่งเซลล์ และการเพิ่มจำนวนเซลล์ เพื่อพัฒนาเป็นเนื้อเยื่อ และเติบโตไปเป็นกล้ามเนื้อหรือเนื้อเยื่อชนิดต่าง ๆ ในร่างกาย

2.3.3 ความสัมพันธ์ระหว่างไลซีนและสารชนิดอื่นๆ

กรดอะมิโนไลซีนมีบทบาท และเป็นส่วนประกอบสำหรับการสร้างสารชนิดอื่น ได้แก่ คาร์นิทีน (carnitine) อาร์จินีน (arginine) และ เดสโมซีน (desmosine) กรดอะมิโนไลซีนมีลักษณะโครงสร้างคล้ายกับกรดอะมิโนอาร์จินีน จึงเกิดการต่อต้านการใช้ประโยชน์ได้ระหว่างกัน (antagonism) โดยไลซีนจะมีการต่อต้านการใช้ประโยชน์ได้ของอาร์จินีนในสัตว์ปีก สำหรับสุกร กรดอะมิโนไลซีนไม่เกิดการต่อต้านการใช้ประโยชน์ได้ของกรดอะมิโนอาร์จินีน นอกจากนี้ ไลซีนยังมีความสัมพันธ์กับเมทไธโอนีน และซีสตีน โดยไลซีนจะใช้กระบวนการดูดซึมเช่นเดียวกับ กรดอะมิโนเมทไธโอนีน กรดอะมิโนซีสตีน กรดอะมิโนอาร์จินีน และ คาร์นิทีน กรดอะมิโนไลซีนยังมีความสัมพันธ์กับ กรดอะมิโนชนิดอื่นๆด้วย เมื่อสุกรมีความต้องการกรดอะมิโนไลซีนมากขึ้น ก็ต้องการ กรดอะมิโนชนิดอื่นๆ เป็นสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นตามด้วย (Scott et al., 1982)

2.2.4 ระดับของไลซีนที่แนะนำในอาหารสุกรขุน

สุกรต้องการกรดอะมิโนไลซีนในปริมาณมาก เพื่อนำไปสังเคราะห์โปรตีน สำหรับการดำรงชีวิต รวมทั้งเพื่อการเจริญเติบโต โดยเฉพาะในกระบวนการสร้างเนื้อแดงซึ่งพบกรดอะมิโนไลซีนเป็นส่วนประกอบของโครงสร้างโปรตีนในเนื้อแดงอยู่ในปริมาณมาก ดังแสดงในตารางที่ 2-2 โปรตีนในอาหารที่มีปริมาณ และสัดส่วนกรดอะมิโนไลซีนไม่เพียงพอต่อความต้องการของสุกร จะทำให้การใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน อัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และการสะสมเนื้อแดงด้อยลง ในขณะเดียวกันก็มีผลทำให้ซากสุกรมีไขมันเพิ่มมากขึ้น โปรตีนในอาหารที่ขาดไลซีนเพียงเล็กน้อย ส่งผลเสียต่ออัตราการเจริญเติบโตเพียงเล็กน้อยเท่านั้น แต่เกิดผลเสียมากต่อปริมาณเนื้อแดง และการสะสมไขมันในซากสุกร

ตารางที่ 2-2 ปริมาณกรดอะมิโนที่พบในโปรตีนกล้ามเนื้อ และน้ำนมสุกร

รายการ (กรัมต่อกิโลกรัมโปรตีน)	โปรตีนกล้ามเนื้อ	โปรตีนในน้ำนมสุกร
ฮีสทิดีน	30	25
ไอโซลิวซีน	35	40
ลิวซีน	75	85
ไลซีน	70	75
เมทไธโอนีน + ซีสตีน	35	30
ฟีนิวอะลานีน + ไทโรซีน	70	80
ทรีโอนีน	40	40
ทรีปโตเฟน	15	15
วาลีน	50	55
อื่น ๆ, กรดอะมิโนไม่จำเป็น	500	-

ที่มา : Whittemore (1998)

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ดังนั้น เพื่อให้สุกรมีคุณภาพซากที่ดี จึงต้องเพิ่มกรดอะมิโนไลซีนให้สูงกว่า เพื่อการเจริญเติบโตที่ดี และระดับที่ทำให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารดี (นิรนาม, 2530; Brown et al., 1973) สอดคล้องกับ Jones et al. (1962) ซึ่งรายงานว่าสุกรขุนที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนร้อยละ 18.00 ไลซีนร้อยละ 0.98 มีอัตราการเจริญเติบโต การสะสมเนื้อแดง และพื้นที่หน้าตัดเนื้อสันสูงกว่าสุกรที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนร้อยละ 15.00 และไลซีนร้อยละ 0.66 เช่นเดียวกับ Jones et al. (1963) ที่รายงานว่าสุกรระยะหย่านม ถึงน้ำหนัก 90 กิโลกรัม ที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนร้อยละ 18.00 ไลซีนร้อยละ 0.83 มีปริมาณเนื้อแดงในซากมากกว่า สุกรที่ได้รับอาหารที่มีโปรตีนร้อยละ 18.00 ไลซีนร้อยละ 0.73 ส่วน NRC (1998) รายงานว่าสุกรที่น้ำหนัก 50-80 กิโลกรัม มีความต้องการกรดอะมิโนไลซีนที่ย่อยได้จริง วันละ 17.10 กรัมต่อวัน คิดเป็นร้อยละ 0.66 ของอาหาร (โปรตีนที่ร้อยละ 15.50) แต่ ARC (1981) รายงานว่าสุกรขุนที่น้ำหนัก 50-90 กิโลกรัม มีความต้องการไลซีนที่ร้อยละ 0.85 ของอาหาร

2.4 ลักษณะและความสำคัญของสุกรระยะรุ่น-ขุน

สุกรมีการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อต่าง ๆ ในร่างกายตามช่วงอายุ สำหรับสุกรระยะรุ่น-ขุน มีกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน ที่เป็นส่วนของเนื้อแดงในปริมาณมาก อยู่เพียงช่วงระยะเวลาหนึ่ง หลังจากนั้นก็จะมีการเพิ่มขึ้นในอัตราที่ลดลง และต่อจากนั้นสุกรก็จะสังเคราะห์โปรตีนเพื่อคงรูป และรักษาโครงสร้างของเซลล์ร่างกายเท่านั้น ในขณะเดียวกันสุกรจะสังเคราะห์ไขมันเพื่อเก็บสะสมในรูปเซลล์ไขมัน โดยอยู่ในรูปของไตรเอซิล กลีเซอรอล ในอัตราที่เพิ่มขึ้น และมีการสะสมทดแทน ซึ่งโดยปกติสุกรขุนที่น้ำหนักมีชีวิต 100 กิโลกรัม จะประกอบด้วยน้ำหนักเครื่องใน 24 กิโลกรัม และน้ำหนักซากประมาณ 76 กิโลกรัม ซึ่งแบ่งออกได้เป็น เนื้อแดงประมาณ 42 กิโลกรัม ไขมันประมาณ 17 กิโลกรัม กระดูกประมาณ 13 กิโลกรัม และหนังประมาณ 4 กิโลกรัม

2.4.1 การสร้างเนื้อแดงของสุกร

สุกรเพศผู้มีการเจริญเติบโตและอัตราการสังเคราะห์ของเนื้อแดงเร็วกว่า สุกรเพศเมีย และสุกรเพศผู้ตอน ตามลำดับ และพบว่าสุกรมีกระบวนการสร้างเนื้อแดงสูงสุดที่น้ำหนักประมาณ 60 ถึง 70 กิโลกรัม ซึ่งทั้งนี้ ระยะเวลาของการสร้าง และสะสมเนื้อแดงก็ขึ้นอยู่กับพันธุกรรมของสุกรแต่ละสายพันธุ์ด้วย ดังนั้นในช่วงที่สุกรสร้างเนื้อแดงปริมาณที่สูง คุณภาพอาหารจึงเป็นสิ่งจำเป็น หากสุกรระยะนี้สามารถนำอาหารไปใช้ประโยชน์ได้ดี ก็จะได้สุกรที่มีเปอร์เซ็นต์เนื้อแดงสูง และมีคุณภาพซากที่ดี และส่วนของช่วงสุกรระยะขุนจะเป็นช่วงที่มีอัตราการสะสมไขมันที่เพิ่มขึ้นมากกว่าในขณะที่การสังเคราะห์โปรตีนชนิดที่เป็นโครงสร้างเนื้อแดง และสะสมเนื้อแดงจะมีอยู่ในอัตราที่ลดลง นอกจากนี้ พันธุกรรมเป็นปัจจัยพื้นฐานของคุณภาพซาก และคุณภาพเนื้อ รวมถึง

ดัชนีประสิทธิภาพการผลิตตัวอื่น ๆ ด้วย ได้แก่ อัตราการเพิ่มขึ้นของน้ำหนัก อัตราการเจริญเติบโต การกินอาหาร และการปรับปรุงพันธุ์ การเลี้ยงสุกรให้มีปริมาณของเนื้อแดงมากขึ้น ควรจะต้องเลี้ยงสุกรขุนแยกเพศ โดยจัดแยกเพศตั้งแต่ระยะเริ่มเลี้ยงในระยะรุ่น เพื่อสะดวกและง่ายต่อการจัดการ ซึ่งความแตกต่างของการเจริญเติบโตจะเริ่มสังเกตเห็นได้ชัดเจนในช่วงสุกรรุ่น และจะยิ่งเห็นชัดเจนมากขึ้นในช่วงสุกรขุน

2.4.2 อิทธิพลของฮอร์โมนต่อระบบร่างกายของสุกร

ฮอร์โมนสำคัญอย่างยิ่งของร่างกายสุกรในการควบคุมการทำงาน และการติดต่อสื่อสาร รวมทั้งประสานขบวนการทำงานระดับเซลล์ให้เกิดประสิทธิภาพ และเป็นระเบียบถูกต้อง เป็นสารที่ร่างกายสร้างออกมาแล้ว แพร่กระจายออกสู่กระแสเลือดไปออกฤทธิ์ที่อวัยวะเป้าหมาย กลไกการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนทุกชนิด เกี่ยวข้องกับการทำงานของระบบประสาทอย่างใกล้ชิด รวมทั้งมีความสัมพันธ์กับระบบสืบพันธุ์ ทางเดินอาหาร และไขมันในร่างกายด้วย การเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ของสุกรขุน เป็นจุดเริ่มต้นของการทำงานอย่างสมบูรณ์ของฮอร์โมนในสุกร การผลิตสุกรในปัจจุบันความต้องการของผู้บริโภคที่จะได้รับสุกรขุนที่มีปริมาณเนื้อแดงสูง ทำให้การคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์สุกร นั้นเน้นการเพิ่มพันธุกรรมของปริมาณเนื้อแดง และลดความหนาไขมันสันหลัง การคัดพันธ์สุกรในลักษณะนี้จะส่งผลให้อายุในการเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ของสุกรสาวในปัจจุบันมีแนวโน้มสูงขึ้นเรื่อยๆ สุกรระยะรุ่น-ขุน เป็นระยะที่กำลังมีการพัฒนาของฮอร์โมน ซึ่งฮอร์โมนที่พบในสุกรเพศเมีย คือ ฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen) ฮอร์โมนลูทิไนซิง (luteinizing ; LH) ส่วนฮอร์โมนที่พบในสุกรเพศผู้ คือ เทสโตสเตอโรน (testosterone) ฮอร์โมนของสุกรเพศผู้มีอิทธิพลต่อความเจริญเติบโต และพัฒนาการทางเพศรวมทั้งพฤติกรรมทางเพศที่แสดงออก เปลี่ยนแปลงทำให้เกิดลักษณะทางเพศ มีกล้ามเนื้อหนา และแข็งแรงขึ้น ซึ่งเป็นลักษณะแสดงความเป็นเพศผู้ มีความรู้สึกต้องการทางเพศ

2.4.3 ลักษณะของสุกรขุนเพศผู้ตอน

สุกรขุนเพศผู้ตอน เป็นสุกรที่ทำการตัดอัณฑะตั้งแต่ระยะหลังคลอดประมาณ 4-8 วัน ซึ่งอัณฑะเป็นแหล่งสร้างฮอร์โมน เทสโทสเตอโรน การตัดอัณฑะออกตั้งแต่ระยะเล็ก ๆ จะมีผลตามมา คือ ร่างกายจะไม่แข็งแกร่ง กล้ามเนื้อหดหายกลายเป็นไขมันนุ่มๆ กระดูกเปราะบาง ผลทางกายภาพ คือ กระดูกขาจะเก้งก้าง ขาดฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน ที่จะช่วยปิดปลายกระดูกให้หยุดโต กล้ามเนื้อสำหรับหุ้มกระดูกมีน้อย มีปริมาณไขมันเป็นส่วนใหญ่ แต่ลักษณะเช่นนี้จะยังไม่แสดงออกมาชัดเจนมากนัก เนื่องจากในช่วงของสุกรระยะแรกเกิด ถึง ระยะรุ่น การสร้างฮอร์โมนยังมีปริมาณไม่มาก และไม่ส่งผลกระทบต่อร่างกายสุกรมากนัก แต่จะส่งผลชัดเจนในสุกรระยะขุน และช่วงเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์สำหรับสุกรทดแทน ดังนั้น ผลของการตัดอัณฑะ ก็คือ การที่

ร่างกายสุกรขาดฮอร์โมนเพศเทสโทสเตอโรน ทำให้มีรูปร่างคล้ายสุกรเพศเมีย กระดูกเปราะ มีการสังเคราะห์โปรตีนสำหรับสร้างกล้ามเนื้อในปริมาณน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับสุกรเพศผู้ และเพศเมีย ที่ระยะน้ำหนักเดียวกัน เนื่องจากฮอร์โมนเพศมีความสำคัญสำหรับการเจริญเติบโต และการสร้างกล้ามเนื้อ ให้ร่างกายสุกรเจริญเติบโตปกติ

2.5 การประเมินคุณภาพของโปรตีน

คุณภาพโปรตีนขึ้นอยู่กับองค์ประกอบ สัดส่วน การย่อยได้ และการนำไปใช้ประโยชน์ได้ของกรดอะมิโนที่ประกอบอยู่ในโปรตีนนั้น ๆ ดังนั้น การประเมินคุณภาพของโปรตีน จึงเป็นสิ่งสำคัญ และจำเป็นสำหรับสุกร และการประกอบสูตรอาหารสุกร ซึ่งการประเมินคุณภาพของโปรตีน สามารถแบ่งออกได้เป็น

2.5.1 ไอเดียลโปรตีน (ideal Protein)

โปรตีนที่มีความสมดุลของกรดอะมิโน หรือ ไอเดียลโปรตีน คือ โปรตีนที่มีดุลยภาพของกรดอะมิโนสมบูรณ์ มีชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนต่าง ๆ เพียงพอ ไม่มีกรดอะมิโนชนิดใดขาด หรือมากเกินพอ การประเมินคุณภาพโปรตีนต้องทราบรูปแบบกรดอะมิโนของไอเดียลโปรตีน เพื่อใช้ประเมินคุณภาพของโปรตีน Wang and Fuller (1990) นิยามไอเดียลโปรตีนว่า เป็นตัวแทนของกรดอะมิโนรวม หรือโปรตีนที่ถูกดูดซึม หรือมีการใช้ประโยชน์ได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งหมายถึง มีองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่ตรงกับความต้องการของสุกร เพื่อใช้ในการดำรงชีพและเพื่อการเจริญเติบโต สาโรช (2547) ได้อธิบายว่าสัดส่วนของกรดอะมิโนในไอเดียลโปรตีนเป็นสัดส่วนที่เน้นถึงปริมาณกรดอะมิโนที่สัตว์ใช้ได้จริง (bioavailability) แต่ในการวัดปริมาณกรดอะมิโนที่สัตว์ใช้ได้จริงในระดับเนื้อเยื่อทำได้ยาก ค่าที่ใช้จึงยึดระดับกรดอะมิโนที่ถูกดูดซึมได้จริง (true ileal digestibility) เมื่ออาหารผ่านมาถึงลำไส้เล็กส่วนปลาย แต่ไม่ใช่กรดอะมิโนที่เข้าสู่ปฏิกิริยาจริงในกระบวนการเมแทบอลิซึมทั้งหมด เพราะกรดอะมิโนที่ถูกดูดซึมบางส่วนอาจไม่ได้นำไปใช้ประโยชน์ จึงเป็นค่าที่บ่งชี้ใกล้เคียงการใช้ประโยชน์ได้จริงเท่านั้น Cole (1979) รายงานว่าสุกรมีความต้องการปริมาณโปรตีนไม่เท่ากัน ขึ้นอยู่กับความแตกต่างในด้านเพศ พันธุ์ น้ำหนักตัว และอัตราการเจริญเติบโตในช่วงต่าง ๆ วิธีการศึกษาไอเดียลโปรตีนมีวิธีการศึกษา 4 วิธี (Boisen, 2003) ดังนี้

ก) การวิเคราะห์รูปแบบ หรือระดับของกรดอะมิโนในอาหาร ซึ่งทำให้เกิดสมรรถนะการเจริญเติบโตสูงสุด

ข) การวิเคราะห์รูปแบบ หรือ ระดับกรดอะมิโนในเนื้อเยื่อร่างกาย

ค) การเปลี่ยนแปลงรูปแบบของกรดอะมิโนในอาหาร เพื่อทำการสะสมไนโตรเจนในร่างกายมากที่สุด มี 2 วิธีย่อย คือ การเติมหมู่อะมิโนลงในอาหารที่มีรูปแบบกรดอะมิโนพื้นฐาน และการลดปริมาณกรดอะมิโนลงในอาหารที่มีรูปแบบกรดอะมิโนพื้นฐาน

ง) การวัดความต้องการกรดอะมิโน เพื่อการสะสมโปรตีนเฉพาะอย่าง ไอเดียลโปรตีนของสุกรสามารถจำแนกออกจากกัน NRC (1998) ได้จำแนกความต้องการของสุกรเพื่อใช้ในการดำรงชีพ และเพื่อการเจริญเติบโต และที่มีในเนื้อเยื่อของสุกร ดังแสดงในตารางที่ 2-3

2.5.2 การประเมินคุณภาพโปรตีนโดยการวิเคราะห์ทางเคมี

เป็นการประเมินคุณภาพของโปรตีนโดยไม่ต้องทำการทดลองกับตัวสัตว์ทดลอง โดยวัดปริมาณของกรดอะมิโนจำเป็น ที่มีในวัตถุดิบหรืออาหารสัตว์ เปรียบเทียบกับปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นที่สัตว์ต้องการ หรือเปรียบเทียบกับกรดอะมิโนในโปรตีนมาตรฐาน ที่มีคุณภาพของโปรตีนสูง เช่น ไข่ หรือ นม การประเมินคุณภาพโปรตีน โดยการวิเคราะห์ทางเคมี ได้แก่ การใช้เอ็นไซม์ย่อยโปรตีนในหลอดทดลอง การวัดค่าเคมิคอล สกอร์ และค่าดัชนีกรดอะมิโนจำเป็น (วชิร, 2546) แต่ละวิธีมีรายละเอียด ดังนี้

1) การใช้เอ็นไซม์ย่อยโปรตีนในหลอดทดลอง (enzymatic technique) เป็นการประเมินคุณภาพของโปรตีน โดยการใช้เอ็นไซม์ที่พบในทางเดินอาหาร เช่น ทริปซิน (trypsin) เปปซิน-ไฮโดรคลอริก (pepsin-HCl) ไคโมทริปซิน (chymotrypsin) และเปปทิเดส (peptidase) โดยใช้เอ็นไซม์เพียงชนิดเดียว หรือหลายชนิดร่วมกัน เพื่อย่อยโปรตีนในวัตถุดิบ หรืออาหารสัตว์ที่ต้องการทดสอบ Johnson and Coon (1979) ทำการศึกษาการใช้เปปซิน-ไฮโดคลอริกเข้มข้นร้อยละ 0.002 ผลพบว่าสามารถทดแทนการใช้เปปซินความเข้มข้นร้อยละ 0.200 ได้ สามารถทำการวัดการย่อยได้ของโปรตีนกล้ามเนื้อ กระดูกป่น และขนไก่ป่นได้ นอกจากนี้ Hsu et al. (1977) ได้หาการย่อยได้ของโปรตีน โดยใช้เอ็นไซม์ ทริปซิน ไคโมทริปซิน และเอ็นไซม์เปปซินร่วมกัน ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.002 ใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง พบว่าสามารถย่อยโปรตีนได้อย่างสมบูรณ์และมีความเร็วต่อการตรวจสอบสูง

ตารางที่ 2-3 สัดส่วนกรดอะมิโนของไอเดียล (ideal protein) โปรตีนในสุกร

รายการ (ร้อยละของไลซีน)	การดำรงชีพ	การเจริญเติบโต	เนื้อเยื่อร่างกาย
ไลซีน	100	100	100
อาร์จินีน	-	48	105
ฮีสทิดีน	32	32	45
ไอโซลิวซีน	75	54	50
ลิวซีน	70	102	109
เมทไธโอนีน	28	27	27
เมทไธโอนีน + ซีสตีน	123	55	45
ฟีนิลอะลานีน	50	60	60
ฟีนิลอะลานีน + ไทโรซีน	121	93	103
ทรีโอนีน	151	60	58
ทริปโตเฟน	26	18	10
วาลีน	67	68	69

ที่มา : NRC (1998)

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

2) เคมิคอล สกอร์ (chemical score) การเปรียบเทียบปริมาณของกรดอะมิโนจำเป็นที่มีอยู่ในวัตถุดิบ หรืออาหารที่ต้องการทดสอบ กับโปรตีนที่มีคุณภาพของกรดอะมิโนสูง เช่น ไข่ นม หรือรูปแบบของโปรตีน และกรดอะมิโนที่ตั้งขึ้นตามความต้องการของสุกร ดังแสดงในตารางที่ 2-3 ในการเปรียบเทียบปริมาณของกรดอะมิโนที่มีในอาหารหรือวัตถุดิบโปรตีนทดสอบจะคำนวณให้เป็นร้อยละของโปรตีนของกรดอะมิโนนั้น ๆ ที่มีแหล่งโปรตีนที่ใช้เปรียบเทียบค่าคะแนนที่เป็นร้อยละ ที่มีค่าต่ำสุดถือเป็นกรดอะมิโนจำกัดตัวที่หนึ่ง เป็นค่าเคมิคอล สกอร์ของโปรตีนในวัตถุดิบหรืออาหารทดสอบนั้น ๆ ใช้เป็นตัวบ่งบอกให้ทราบถึงคุณภาพโปรตีนเพราะบอกถึงกรดอะมิโนที่ขาดในอาหาร การใช้ค่าดังกล่าวนี้ ในการประเมินคุณภาพโปรตีนยังมีข้อจำกัด เนื่องจากไม่ได้คำนึงถึงกรดอะมิโนอื่น ๆ ที่ขาดแคลนด้วย และค่าที่ได้ไม่สามารถบอกได้ว่าสัตว์จะใช้ประโยชน์ได้ตามที่วิเคราะห์ นอกจากนี้ยังมีความแปรผันตาม แหล่งโปรตีนมาตรฐานที่นำมาเปรียบเทียบ ทำให้คุณภาพโปรตีนแตกต่างกัน สูตรคำนวณค่าเคมิคอล สกอร์ (Seligson and Mackey, 1984) ดังแสดง

เคมิคอล สกอร์ (chemical score)

$$= \frac{\text{ร้อยละของโปรตีนของกรดอะมิโนในโปรตีนที่ใช้ทดสอบ}}{\text{ร้อยละของโปรตีนของกรดอะมิโนในโปรตีนที่ใช้เปรียบเทียบ}} \times 100$$

3) ดัชนีกรดอะมิโนจำเป็น (essential amino acid index) เป็นการเปรียบเทียบระหว่างอัตราส่วนของกรดอะมิโนจำเป็นทั้งหมดในอาหาร ที่ต้องการทำการทดสอบคุณภาพโปรตีนกับกรดอะมิโนจำเป็นทั้งหมดในโปรตีนมาตรฐาน คือ ไข่ทั้งฟอง ดัชนีของกรดอะมิโนจำเป็นในการคำนวณจะให้ค่าที่มีความถูกต้องยิ่งขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับค่าเคมิคอล สกอร์ อย่างไรก็ตามดัชนีกรดอะมิโนจำเป็นยังมีข้อจำกัด คือ ในการคำนวณเป็นการนำกรดอะมิโนจำเป็น 10 ชนิด และใช้ปริมาณกรดอะมิโนฟีนิลอะลานีนรวมตัวกับไทโรซีน นอกจากนี้การใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน ไม่ได้เป็นผลจากปริมาณโภชนะเพียงอย่างเดียว อาจเป็นผลจากแหล่งโปรตีนมาตรฐานที่นำมาเปรียบเทียบ การย่อยเอ็นไซม์ และการดูดซึมเข้าสู่ร่างกายของกรดอะมิโนด้วย (Oser, 1959)

ตารางที่ 2-4 ปริมาณของกรดอะมิโนมาตรฐานที่ใช้คำนวณค่าเคมิคอล สกอร์

กรดอะมิโน (ร้อยละ)	ไข่ทั้งฟอง[1]	ไข่แดง[2]	ความต้องการของสุกร ระยะน้ำหนัก 50-80 กิโลกรัม[3]
โปรตีน	12.90	17.50	15.50
อาร์จินีน	0.85 (6.59)	0.19 (1.09)	0.24 (1.55)
ฮีสทิดีน	0.31 (2.40)	0.07 (0.40)	0.21 (1.35)
ไอโซลิวซีน	0.85 (6.59)	0.15 (0.86)	0.37 (2.39)
ลิวซีน	1.14 (8.84)	0.24 (1.37)	0.67 (4.32)
ไลซีน	0.83 (6.43)	0.20 (1.14)	0.66 (4.26)
เมทไธโอนีน	0.41 (3.18)	0.06 (0.34)	0.18 (1.16)
ซีสตีน	0.30 (2.33)	0.05 (0.29)	0.21 (1.35)
เมทไธโอนีน+ซีสตีน	0.71 (5.50)	0.11 (0.63)	0.39 (2.52)
ฟีนิลอะลานีน	0.75 (5.81)	0.12 (0.69)	0.40 (2.58)
ไทโรซีน	0.55 (4.26)	-	0.23 (1.48)
ฟีนิลอะลานีน+ไทโรซีน	1.30 (10.08)	-	0.63 (4.06)
ทรีโอนีน	0.64 (4.96)	0.14 (0.80)	0.43 (2.77)
ทริปโตเฟน	0.21 (1.63)	0.40 (2.29)	0.12 (0.77)
วาลีน	0.69 (5.35)	0.16 (0.91)	0.45 (2.90)

หมายเหตุ : [1] Oser (1959)

[2] Bell and Weaver (2002)

[3] NRC (1998)

[4] ข้อมูลในวงเล็บ คือ ร้อยละของโปรตีน

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

2.5.3 การประเมินคุณภาพโปรตีนโดยการใช้สัตว์ทดลอง

การประเมินคุณภาพโปรตีน เป็นการใช้วิธีต่าง ๆ เพื่อสามารถบ่งบอกถึงคุณค่าของโปรตีนที่มีอยู่ในวัตถุดิบอาหาร ว่ามีกรดอะมิโนเพียงพอด้วยปริมาณ ชนิด และสัดส่วนใกล้เคียงกับความต้องการของสัตว์ โปรตีนที่มีคุณภาพดีต้องมีกรดอะมิโนจำเป็นในอาหารครบ การประเมินคุณภาพโปรตีน โดยการใช้สัตว์ทดลองหรือวิธีทางชีววิทยา เป็นการประเมินจากตัวสัตว์ จึงทำให้ได้รายละเอียดเกี่ยวกับคุณภาพ และคุณค่าทางโภชนาการของอาหารที่ถูกต้อง มีหลายวิธี เช่น วัดการย่อยได้ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน อัตราโปรตีนสุทธิ การใช้ประโยชน์ได้สุทธิของโปรตีน และค่าทางชีวภาพของโปรตีน เป็นต้น (วชิร, 2546) แต่ละวิธี มีรายละเอียด ดังนี้

1) การย่อยได้ของโภชนะ (digestibility) เป็นการประเมินโภชนะแต่ละชนิด ที่ถูกย่อยในวัตถุดิบ หรือ อาหารสัตว์ หากวัตถุดิบชนิดใดที่ไม่สามารถให้กินเพียงอย่างเดียวได้ จำเป็นต้องเติมในอาหารพื้นฐาน และหาค่าการย่อยได้โดยใช้ผลต่างของอาหาร (partial-digestibility) เพื่อคำนวณการย่อยได้ของวัตถุดิบ ซึ่งจะต้องทราบค่าการย่อยได้ของอาหารพื้นฐานก่อน และเมื่อเติมวัตถุดิบทดสอบแล้วนำไปเลี้ยงสัตว์ จะสามารถคำนวณค่าการย่อยได้ของวัตถุดิบทดสอบได้ การย่อยได้ของโภชนะเป็นการประเมิน โดยให้สัตว์กินโภชนะ หรืออาหารทดสอบ และวัดปริมาณอาหาร หรือปริมาณโภชนะที่ถูกขับถ่ายออกมาในมูล ส่วนต่างของปริมาณที่กินและในมูล บ่งบอกถึงปริมาณที่ถูกย่อยและดูดซึมไว้ในร่างกาย (Schneider and Flatt, 1975) แสดงเป็นสัดส่วนหรือสัมประสิทธิ์ของโภชนะที่ย่อยได้ หรือเป็นอัตราร้อยละของการย่อยได้ เช่น วิธีการเก็บมูลทั้งหมด วิธีใช้สารบ่งชี้ช่วยทดสอบ (indicator method) แต่ละวิธีการมีข้อดี และข้อจำกัดในการนำไปใช้ที่แตกต่างกัน การหาค่าการย่อยได้ มีรายละเอียด ดังนี้

วิธีการเก็บมูลทั้งหมด ต้องทราบปริมาณอาหาร หรือปริมาณโภชนะที่แน่นอนและคงที่ในเวลาที่กำหนดแน่นอน เก็บมูลทั้งหมดที่สุกรขับถ่าย และทำการวิเคราะห์หาปริมาณอาหารหรือโภชนะที่ต้องการทดสอบในมูล ผลต่างจะเป็นปริมาณโภชนะที่ย่อยได้ การทดสอบโดยวิธีนี้ สัตว์จำเป็นต้องมีระยะเวลาการปรับตัวให้เพียงพอกับอาหารทดสอบ และปัจจัยอื่น ๆ เช่น สภาพแวดล้อมในการเลี้ยง ก่อนทำการเก็บมูล สุกรมีระยะเวลาในการปรับตัวให้คุ้นเคยกรงทดลองประมาณ 5 ถึง 7 วัน (Gralar et al., 1998) นอกจากนี้อาจจะใช้ตัวหมาย (marker) เพื่อให้แน่ใจว่ามูลที่ถ่ายออกมาเป็นส่วนที่เหลือจากการย่อยอาหารทดสอบ ตัวหมายที่ดีควรเป็นสารที่ไม่ทำปฏิกิริยา เปลี่ยนแปลงอัตราการย่อยอาหาร ไม่มีโภชนะที่ทดสอบประกอบอยู่ ไม่ดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย เช่น โครมิก อ๊อกไซด์ (chromic oxide) และไทเทเนียม ไดอ๊อกไซด์ (titanium dioxide) เป็นต้น ในการหาการย่อยได้ของสิ่งแห้ง สามารถหาได้จากสิ่งแห้งที่กิน หักลบด้วยปริมาณสิ่งแห้ง

ในมูล ส่วนการย่อยได้ของไนโตรเจน สามารถหาได้โดยปริมาณไนโตรเจนที่สัตว์กิน หักลบด้วยปริมาณของไนโตรเจนในมูลสัตว์ที่ขับออก

วิธีใช้สารบ่งชี้ช่วยทดสอบการย่อย โดยให้สัตว์ที่กินอาหารผสมสารบ่งชี้ ในระดับความเข้มข้นที่กำหนด หลังการย่อยและดูดซึมโภชนะ ความเข้มข้นของสารบ่งชี้ในมูล จะเปลี่ยนแปลงโดยเป็นสัดส่วนกับโภชนะที่ถูกย่อย และดูดซึมเหมาะสม สำหรับการทดลองที่ไม่สามารถเก็บมูลได้ทั้งหมด สารบ่งชี้จะต้องมีคุณสมบัติที่สำคัญ คือ ไม่เป็นพิษ สัตว์ย่อยและดูดซึมไม่ได้และไม่มีฤทธิ์ หรือรบกวนการทำงานของระบบการย่อยอาหาร มีการเคลื่อนตัวผ่านทางเดินอาหารโดยอัตราสม่ำเสมอ

2) ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio; PER) เป็นการประเมินคุณภาพโปรตีน และการนำใช้โปรตีนในอาหาร จากอัตราการเจริญเติบโต หรือน้ำหนักตัวที่เพิ่มเปรียบเทียบกับปริมาณโปรตีนที่สัตว์กิน เป็นการประเมินคุณภาพโปรตีนจากสมรรถนะการเจริญเติบโตของสัตว์ทดลอง ข้อเสียของวิธีนี้ คือ เป็นการสมมติว่าในอาหารทั้งหมด ถูกใช้สำหรับการเจริญเติบโตทั้งหมด ซึ่งที่จริงแล้วโปรตีนบางส่วนในอาหาร ถูกใช้สำหรับการดำรงชีพ ในการซ่อมแซมเนื้อเยื่อส่วนที่สึกหรอ และค่าที่ได้นี้อาจจะมีความแตกต่างกันเนื่องมาจาก อายุ เพศ ระยะเวลาของการทดสอบ และปริมาณโปรตีน

3) อัตราโปรตีนสุทธิ (net protein ratio; NPR) เป็นการประเมินคุณภาพของโปรตีนที่นำค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนมาปรับปรุง โดยค่าอัตราโปรตีนสุทธิ ต้องมีการทดสอบให้สัตว์ทดลองได้รับอาหารที่ไม่มีโปรตีนเพิ่มอีกกลุ่มหนึ่ง แล้วนำอัตราการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของน้ำหนักตัวของสัตว์กลุ่มนี้ ลบออกจากค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน วิธีนี้จะได้ค่าการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวที่ได้จากโปรตีนในอาหารที่มีการทดสอบจริง เพราะได้หักค่าผิดพลาดของการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักจากสาเหตุอื่นแล้ว

4) ค่าทางชีวภาพของโปรตีน (biological value; BV) การวัดปริมาณไนโตรเจนในร่างกายสามารถกักเก็บไว้ เพื่อดำรงชีพ การเจริญเติบโต หรือสร้างเนื้อเยื่อ และสารประกอบต่าง ๆ โดยคิดเป็นร้อยละของไนโตรเจนที่ถูกย่อย และดูดซึมไว้ในร่างกาย ดังนั้นความแตกต่างของการย่อยได้จากโปรตีนแต่ละชนิดจะไม่มีผลกระทบต่อค่านี้ (Crampton and Harris, 1969; Pond et al., 1995) ค่าทางชีวภาพของโปรตีน แสดงถึงปริมาณของไนโตรเจนที่สะสมได้ในร่างกายจากปริมาณไนโตรเจนที่ดูดซึม โปรตีนที่มีความสมดุลของกรดอะมิโนที่ดี มีค่าทางชีวภาพจริงของโปรตีนสูง สามารถอธิบายถึงความสมดุลของกรดอะมิโนที่ถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย หากกรดอะมิโนที่ดูดซึมเข้าสู่ร่างกายตรงกับความต้องการ มีการใช้ประโยชน์จากกรดอะมิโนได้อย่างมีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์โปรตีน มีปริมาณของไนโตรเจนในปัสสาวะต่ำ ค่าทางชีวภาพของ

โปรตีนมีค่าสูง ซึ่งแสดงว่ามีปริมาณไนโตรเจนที่สะสมได้ในร่างกายสูง จากปริมาณไนโตรเจนที่ถูกดูดซึม

5) การใช้ประโยชน์ได้สุทธิของโปรตีน (net protein utilization; NPU) ในการประเมินคุณภาพของโปรตีน โดยการหาค่าการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนที่ได้รับ และมีการเก็บสะสมไว้ในร่างกาย โดยพิจารณาค่าการย่อยได้ร่วมด้วย ซึ่งจะมีผลตามชนิดหรือปริมาณที่ได้รับของโปรตีนแต่ละชนิด (Crampton and Harris, 1969) สามารถคำนวณหาการใช้ประโยชน์สุทธิของโปรตีน โดยการเปรียบเทียบระหว่างไนโตรเจนที่ถูกสะสมไว้ในร่างกาย จากปริมาณไนโตรเจนที่กินทั้งหมด หรือค่าทางชีวภาพของโปรตีน คูณด้วยค่าการย่อยได้ของไนโตรเจน เป็นการคำนึงถึงการย่อยได้ของไนโตรเจนจากโปรตีนที่กิน ร่วมกับสมดุลของกรดอะมิโนที่ถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย จึงสามารถอธิบายถึงปริมาณไนโตรเจนที่ถูกสะสมในร่างกาย จากปริมาณไนโตรเจนที่กินทั้งหมดในอาหาร

มหาวิทยาลัยขอนแก่น