



<https://li01.tci-thaijo.org/index.php/pajrmu/index>

บทความวิจัย

การเสริมซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจากเปลือกโกโก้หมักต่อประสิทธิภาพการให้ผลผลิตค่าโลหิตวิทยาและคุณภาพไข่ในไก่ไข่

วุฒิกกร สระแก้ว¹ สุธาทิพย์ ไชยวงศ์¹ ธัญทิพย์ จิตตนิรมล¹ นนทพัทธ์ เรืองโหรา¹ รัชณี บัวระภา¹ อภิชนา ฝักปากเพระ³ ศุภนิดา ทองปิ่น³ ทอฝัน กำคำ³ และธัญศิริกร ณ น่าน^{2,3*}

¹ สาขาสัตวศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา น่าน อำเภอภูเพียง จังหวัดน่าน 55000 ประเทศไทย

² หน่วยปฏิบัติการวิจัยนวัตกรรมพัฒนาโกโก้ไทยเพื่อความยั่งยืน จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330 ประเทศไทย

³ สำนักวิชาทรัพยากรการเกษตร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330 ประเทศไทย

ข้อมูลบทความ

Article history

รับ: 17 พฤศจิกายน 2567

แก้ไข: 28 มีนาคม 2568

ตอบรับการตีพิมพ์: 23 เมษายน 2568

ตีพิมพ์ออนไลน์: 26 พฤษภาคม 2568

คำสำคัญ

ซิมไบโอติกส์ธรรมชาติ

เปลือกโกโก้

สมรรถนะการให้ผลผลิต

คุณภาพไข่

ไก่ไข่

บทคัดย่อ

ซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจากเปลือกโกโก้ (Natural symbiotics from cocoa husk silage, NSCOS) เป็นสารเสริมที่ผลิตจากการนำเปลือกโกโก้หมักร่วมกับน้ำหมักจุลินทรีย์แลคติกที่ขยายเชื้อจากใบหญ้าเนเปียร์และสามารถนำมาใช้เป็นสารเสริมในอาหารสัตว์ได้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริม NSCOS ต่อผลผลิตและคุณภาพไข่ในไก่ไข่ โดยใช้ไก่ไข่เพศเมีย สายพันธุ์โรมาเนบราร์น อายุ 50 สัปดาห์ จำนวน 144 ตัว วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยแบ่งให้ไก่ไข่ได้รับสูตรอาหารที่แตกต่างกัน 3 กลุ่มทดลอง ดังนี้ กลุ่มที่ 1 อาหารควบคุมโปรตีน 18 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่ 2 อาหารควบคุมเสริมเปลือกโกโก้ 2 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ 3 อาหารควบคุมเสริม NSCOS 2 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลอง 60 วัน จากการทดลองพบว่า การเสริมเปลือกโกโก้และการเสริม NSCOS ไม่ส่งผลต่อปริมาณการกินได้และปริมาณผลผลิตไข่ ($p>0.05$) ขณะที่อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไข่มีค่าต่ำสุดในไก่ไข่ที่เสริม NSCOS ($p<0.05$) การย่อยได้ของวัตถุดิบ อินทรีย์วัตถุ และเยื่อใยมีค่าเพิ่มขึ้น ขณะที่อัตราส่วนของค่า H:L ratio มีค่าลดลง ($p<0.05$) ในไก่ไข่ที่เสริมเปลือกโกโก้และเสริม NSCOS คุณภาพไข่ในส่วนของ ความสูงไข่แดง และค่า Haugh unit มีค่าเพิ่มขึ้น ($p<0.05$) ในไก่ไข่ที่เสริม NSCOS เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เสริมเปลือกโกโก้ แสดงให้เห็นว่าซิมไบโอติกส์ธรรมชาติที่ได้จากเปลือกโกโก้ NSCOS สามารถใช้เป็นเสริมในอาหารไก่ไข่ได้ โดยส่งผลดีต่ออัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นไข่และคุณภาพไข่

บทนำ

ปัจจุบันการผลิตไข่เพื่อการค้าเป็นธุรกิจที่ขยายตัวเป็นวงกว้างและได้รับการส่งเสริมจากภาครัฐอย่างต่อเนื่อง โดยไข่ไก่เป็นวัตถุดิบที่หาซื้อง่ายและโปรตีนสูงจากสัตว์ ถ้าเทียบกับคุณภาพและปริมาณแล้วถือว่าเป็นโปรตีนที่มีราคาถูกที่ผู้บริโภคสามารถเข้าถึงได้ทุกคน จึงทำให้จำนวนและปริมาณการบริโภคไข่ไก่นั้นสูง ทั้งนี้ ไข่ไก่ถือว่าเป็นสัตว์เศรษฐกิจของประเทศไทย ซึ่งในการผลิตต้องคำนึงถึงผลผลิตไข่ที่สูงและรวมถึงพยายามพัฒนาคุณภาพไข่ให้ดียิ่งขึ้นเพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภค อย่างไรก็ตาม นอกจากปริมาณความต้องการบริโภคที่สูงขึ้นแล้วนั้นผู้บริโภคยังต้องการบริโภคไข่ไก่ที่มีคุณภาพดีด้วย สาเหตุดังกล่าวทำให้เกษตรกรผู้เลี้ยงไข่ไก่จำเป็นต้องพัฒนาการเลี้ยงเพื่อให้ไข่สามารถให้ผลผลิตที่สูงและคุณภาพไข่ที่ดีด้วยการใช้สารเสริมเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตในรูปแบบของ ซิมไบโอติกส์ (Symbiotics) กล่าวคือ เสริมร่วมกันระหว่างพรีไบโอติกส์ (Prebiotics) และโพรไบโอติกส์ (Probiotics) โดยการใช้สารเสริมในรูปแบบซิมไบโอติกส์สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของโพรไบโอติกส์ได้

ซิมไบโอติกส์ธรรมชาติ (Natural symbiotics) เป็นการผลิตสารเสริมผสมระหว่างพรีไบโอติกส์จากแหล่งธรรมชาติร่วมกับโพรไบโอติกส์

จากธรรมชาติ โดยโพรไบโอติกส์ธรรมชาติเป็นจุลินทรีย์ที่พบในธรรมชาติที่สามารถใช้เป็นสารเสริมในอาหารแล้วมีผลให้เกิดประโยชน์ต่อร่างกายสัตว์ ซึ่งจุลินทรีย์ที่พบในธรรมชาติมีหลายกลุ่ม เช่น กลุ่มจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) จากรายงานของ Srakaew et al. (2021) พบว่า เชื้อจุลินทรีย์แลคติกธรรมชาติที่ผลิตจาก ใบหญ้าเนเปียร์และสามารถใช้เป็นสารเสริมในอาหารสัตว์ที่มีผลเชิงบวกต่อการให้ผลผลิตของไก่เนื้อ (Chaiwong et al., 2023) จากข้อมูลแสดงให้เห็นว่าการใช้จุลินทรีย์แลคติกจากใบหญ้าเนเปียร์สามารถใช้เป็นโพรไบโอติกส์ธรรมชาติได้ ขณะที่พรีไบโอติกส์ธรรมชาติ คือ สารอาหารจุลินทรีย์ที่พบได้ในพืชธรรมชาติ Younes et al. (2022) พบว่า เปลือกโกโก้จัดเป็นสารเสริมพรีไบโอติกส์ และยังสามารถใช้เป็นวัตถุดิบในอาหารสัตว์ได้ ในเปลือกผลโกโก้มีองค์ประกอบของโภชนะทั้งโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต และบางส่วนของคาร์โบไฮเดรตเป็นกลุ่มของโอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharides) และ เพคติน 6.1-9.2 กรัม ต่อ 100 กรัมวัตถุดิบ ซึ่งทนทานต่อการย่อยในกระเพาะอาหารรวมถึงไม่ดูดซึมในลำไส้เล็กและไหลผ่านไปยังลำไส้ส่วนท้ายและถูกหมักย่อยโดยจุลินทรีย์หรือเป็นสารอาหารของจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ (Kemperman et al., 2010)

* Corresponding author

E-mail address: Tansiphorn.j@chula.ac.th (T. Na Nan)

Online print: 26 May 2025 Copyright © 2025. This is an open access article, production, and hosting by Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University. <https://doi.org/10.14456/paj.2025.10>

นอกจากนี้ยังมีสารโพลีฟีนอล เช่น ฟลาโวนอยด์ แทนนิน และมีสารสำคัญอื่น ๆ ที่เป็นองค์ประกอบอีกหลายชนิด เช่น ซีโอโบรมีน (Theobromine) สารประกอบเหล่านี้จะส่งผลต่อตัวสัตว์ในด้านการลดการอักเสบและมีบทบาทในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในท้องทางเดินอาหาร (Chungsiripom et al., 2022) ดังนั้น เปลือกโกโก้ก็น่าจะใช้เป็นแหล่ง โปรไบโอติกส์ธรรมชาติได้

ซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจากเปลือกโกโก้หมัก (Natural symbiotics from cocoa husks silage; NSCOS) เป็นการหมักเปลือกโกโก้ร่วมกับจุลินทรีย์แลคติกจากใบหญ้าเนเปียร์ ส่งผลทำให้กลิ่นของเปลือกโกโก้หมักมีความหอมอมเปรี้ยวและมีโปรตีนเพิ่มสูงขึ้น โดยเปลือกโกโก้แห้งมีโปรตีนเฉลี่ย 6 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่เปลือกโกโก้หมักมีโปรตีน 10-12 เปอร์เซ็นต์ และพบว่า มีจำนวนจุลินทรีย์แลคติก 4×10^7 CFU/มิลลิกรัม ซึ่งจะช่วยให้โปรไบโอติกส์ธรรมชาติจากเปลือกโกโก้ร่วมกับโปรไบโอติกส์ธรรมชาติจากจุลินทรีย์แลคติก จากข้อมูลเบื้องต้นแสดงให้เห็นว่าสามารถผลิตซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจากเปลือกโกโก้หมักได้ และน่าจะสามารถใช้เป็นสารเสริมเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและคุณภาพไข่ในไก่ไข่ได้ อย่างไรก็ตาม ข้อมูลดังกล่าวยังขาดการศึกษาทดลองถึงผลที่เกิดขึ้นในตัวสัตว์ปีกโดยเฉพาะไก่ไข่ ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาผลของการใช้สารเสริมซิมไบโอติกส์ธรรมชาติที่ผลิตจากเปลือกโกโก้หมักในรูปของ NSCOS ต่อปริมาณการให้ผลผลิตไข่และรวมถึงผลที่เกิดขึ้นต่อคุณภาพไข่ในไก่ไข่

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

การเตรียมเปลือกโกโก้แห้งและซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจากเปลือกโกโก้หมัก

นำเปลือกโกโก้ที่ได้จากโรงงานผลิตโกโก้ อำเภอท่าวังผา จังหวัดน่าน นำมาสับละเอียดขนาด 1 - 2 เซนติเมตร โดยใช้เครื่องสับหญ้าอัตโนมัติ จากนั้นนำเปลือกโกโก้ที่ผ่านการสับแล้วแบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกนำไปตากแห้งและบดละเอียดก่อนนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ วัตถุแห้ง โปรตีนหยาบ เยื่อใยรวม ไขมันรวม และเถ้า ตามวิธีของ Association of official analytical chemists (AOAC) (1995) และเตรียมใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับใช้ในอาหารสัตว์ ส่วนที่ 2 นำมาผลิต NSCOS โดยนำเปลือกโกโก้ที่สับแล้วมาคลุกกับ น้ำหมักแบคทีเรียแลคติก โดยน้ำหมักแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก ผลิตโดยปรับปรุงกระบวนการผลิตตามวิธีการของ Bureenok et al. (2007) ทำการขยายหัวเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก โดยใช้ใบหญ้าเนเปียร์จำนวน 200 กรัม ปั่นให้ละเอียด เติมน้ำให้ครบ 1 ลิตร จากนั้นกรองเอาแต่น้ำแล้วเติมน้ำตาลทราย 20 กรัม ทำการบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน ก่อนนำมาใช้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกในน้ำหมัก พบว่า มีจำนวนเฉลี่ยเท่ากับ 2.02×10^8 CFU/มิลลิลิตร โดยกระบวนการหมักนั้นทำการผสมน้ำหมักเข้ากับเปลือกโกโก้ในอัตราส่วนเปลือกโกโก้ 100 ส่วน น้ำหมัก 2 ส่วน (2 % โดยน้ำหนักสด) นำไปหมักในถังแบบไร้ออกซิเจน แล้วบ่มไว้เป็นเวลา 14 วัน ก่อนสุ่มตัวอย่างนำมาวิเคราะห์หาเชื้อจุลินทรีย์ แบคทีเรียกรดแลคติก ด้วยวิธี Culture technique โดยใช้ Selective media คือ MRS agar + 0.02 % NaH_3 + 0.05 % L-Cystine Hydrochloride Monohydrate ตามวิธีของ Makivic et al. (2019) พบว่า มีจำนวน

จุลินทรีย์แลคติก 4×10^7 CFU/มิลลิกรัม และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ วัตถุแห้ง โปรตีนหยาบ เยื่อใยรวม ไขมันรวม และเถ้า ตามวิธีของ AOAC (1995) และส่งตัวอย่างวิเคราะห์หาปริมาณโพลีฟีนอลตามวิธีการของ Hou et al. (2003) ส่วนที่เหลือนำมาตากแห้งและบดละเอียดก่อนนำไปใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับสัตว์

สัตว์ทดลอง สถานที่ทดลองและจรรยาบรรณสัตว์ทดลอง

ใช้ไก่ไข่สายพันธุ์โรมันบราวน์ อายุ 50 สัปดาห์ จำนวน 144 ตัว ทำการสุ่มไก่ไข่เข้าสู่กรงทดลอง กรงทดลองละ 3 ตัว จำนวนทั้งหมด 48 กรง การดำเนินการทดลองครั้งนี้ได้รับการอนุญาตให้ดำเนินการใช้สัตว์ทดลอง โดยผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ใบอนุญาตเลขที่ RMUTL-IACUC 001/2022 ในการทดลองครั้งนี้ดำเนินการทดลอง ณ ฟาร์มทดลองสัตว์ปีก มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา น่าน โดยจัดให้สัตว์ทดลองอยู่บนกรงระดับขนาดกว้าง x ยาว x สูง เท่ากับ $45 \times 55 \times 40$ เซนติเมตร โดยมีการจัดการดูแลและให้แสงธรรมชาติในโรงเรือนแบบเปิด (ช่วงเวลา 06.30-18.00 น.) ร่วมกับการให้แสงไฟฟ้าจากหลอดนีออน (เวลา 18.00-22.30 น.) เล้าทดลองผ่านการล้างทำความสะอาดฆ่าเชื้อด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ BIOCLEAN และโรยปูนขาวทิ้งไว้ก่อนดำเนินการทดลองเป็นเวลา 14 วัน

การวางแผนการทดลองและการให้อาหารทดลอง

ในการศึกษาครั้งนี้วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) โดยในการทดลองครั้งนี้ใช้ระยะเวลาทดลอง 60 วัน ประกอบด้วย 3 ทริทเมนต์ ๆ ละ 4 ซ้ำ (จำนวน 4 กรงต่อซ้ำ โดยบรรจุไก่กรงละ 3 ตัว รวมซ้ำละ 12 ตัว) ใช้สัตว์ทดลองทั้งหมด 144 ตัว โดยมีการสุ่มทริทเมนต์ให้กับซ้ำที่กำหนดไว้ในพื้นที่ภายในโรงเรือนเดียวกัน ใช้การคำนวณขนาดของตัวอย่างตามวิธีการของ Neter et al. (1996) โดยทริทเมนต์มีความแตกต่างกันดังนี้

ทริทเมนต์ที่ 1 คือ สูตรอาหารที่มีโปรตีน 18 เปอร์เซ็นต์ (สูตรควบคุม)

ทริทเมนต์ที่ 2 คือ สูตรอาหารควบคุมเสริมเปลือกโกโก้ 2 เปอร์เซ็นต์

ทริทเมนต์ที่ 3 คือ สูตรอาหารควบคุมเสริม NSCOS 2 เปอร์เซ็นต์

อาหารสัตว์ทดลองที่ให้แตกต่างกันตามแต่ละกลุ่มทดลอง โดยใช้อาหารรูปแบบผง (อาหารผสมเอง) คำนวณให้มีโปรตีนหยาบ 18 เปอร์เซ็นต์ พลังงานใช้ประโยชน์ได้ 2,850 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัมวัตถุดิบ ตามคำแนะนำของ National Research Council (NRC) (1994) ใช้สูตรอาหารผสมเองโดยแต่ละสูตรมีความแตกต่างกันที่ดังทริทเมนต์ โดยส่วนประกอบของอาหารทดลอง แสดงใน Table 1 ในการให้อาหารสัตว์ทดลองจัดให้ไก่ไข่ได้รับอาหารแบบจำกัด (Restrict feed) โดยคำนวณปริมาณที่ให้ประมาณ 110 กรัมวัตถุดิบต่อตัวต่อวัน โดยแบ่งให้อาหารในแต่ละวันเป็น 2 เวลา คือ ในตอนเช้าเวลา 7.30 น. และตอนบ่ายเวลา 16.00 น. และสัตว์ปีกทดลองได้รับน้ำสะอาดอย่างเพียงพอและมีให้กินตลอดเวลา

Table 1 Experimental feed ingredients

Items	Kg/100 kg
Fish meal (60 %CP)	3
Full fat soybean	5
Soybean meal	22
Broken rice	5
Rice bran	10
Corn meal	42
Rice bran with hull	4.8
Premixed	0.3
Salt	0.3
Dicalcium phosphate (P21)	2.5
Lime stone	5.0
Plant oil	0.5
DL-methionine (99 %)	0.2
L- lysine (99 %)	0.1
Total	100
Price (THB/kg)	15.8

สมรรถนะการผลิตไข่ของไก่ไข่

เลี้ยงไก่ไข่บนกรงตับกรง ๆ ละ 3 ตัว เพื่อวัดสมรรถนะการผลิตโดยใช้เวลาทั้งหมด 60 วัน บันทึกจำนวนไข่ต่อวัน และชั่งน้ำหนักไข่ นำข้อมูลมาคำนวณหาสมรรถนะการผลิตของไก่ไข่ (Hen-day production) น้ำหนักไข่เฉลี่ย (Average egg weight) ปริมาณมวลไข่รวม (Egg mass) [Egg mass = (average egg weight x hen-day production)/100] ตามวิธีของ Zhao et al. (2004) Ragab et al. (2012) และ Lokhande et al. (2013) ทำการจดบันทึกปริมาณอาหารที่ให้และปริมาณอาหารที่เหลือ เพื่อคำนวณหาปริมาณการกินได้ (Feed Intake) และสุ่มเก็บอาหารที่เหลือทุก ๆ สัปดาห์ของช่วงเวลาการทดลอง แบ่งเป็นสองส่วน ส่วนแรกนำไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เพื่อนำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณวัตถุแห้งของอาหารทดลอง จากนั้นนำค่าที่ได้ไปคำนวณปริมาณการกินได้โดยคิดต่อหน่วยน้ำหนักแห้ง และอาหารอีกส่วนหนึ่งนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เสร็จแล้วนำไปคั่วผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร เพื่อวิเคราะห์หาส่วนประกอบทางเคมีของโภชนะต่าง ๆ ได้แก่ วัตถุแห้ง โปรตีนหยาบ เยื่อใยรวม ไชมันรวม และเถ้า ตามวิธีของ AOAC (1995) และคำนวณหาค่าคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ง่าย (Nitrogen free extract, NFE) จากสมการ $NFE = 100 - (\% \text{ ความชื้น} + \% \text{ โปรตีนหยาบ} + \% \text{ เยื่อใยรวม} + \% \text{ ไชมันรวม} + \% \text{ เถ้า})$ และคำนวณหาประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นไข่ 1 กิโลกรัม (Feed conversion ratio per 1 kg of egg) (FCR = feed intake/egg mass) ตามวิธีของ Hu et al. (2011) Lokhande et al. (2013) และ Nopparatmaitree et al. (2014)

การใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในอาหารไก่ไข่

การวิเคราะห์ค่าการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในอาหารไก่ไข่ภายในตัวสัตว์ (*In vivo*) ด้วยวิธีการทดสอบการใช้ประโยชน์ได้รวม (Total tract nutrient utilization) โดยใช้สารบ่งชี้ (Indicator marker) คือ โครมิกซ็อกไซด์ (Cr_2O_3) 0.3 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารทดลอง ตามวิธีของ Fenton & Fenton (1979) โดยเมื่อไก่ทดลอง

อายุทดลอง 6 สัปดาห์ ทำการสุ่มไก่ทดลองจำนวน 3 กรง ต่อทรีทเมนต์ เข้าทดสอบการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ โดยแต่ละกรงรองรับด้านล่างกรงด้วยถาดเก็บมูล และมีที่ให้น้ำให้อาหารด้านหน้าของกรง ไก่ทดลองในกรงจะถูกสุ่มให้ได้รับอาหารทดลองทั้ง 3 สูตร โดยในแต่ละสูตรจะผสมด้วยโครมิกซ็อกไซด์ (Cr_2O_3) จำนวน 0.3 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงสัปดาห์ที่ 7 และ 8 ของการทดลอง โดยแบ่งช่วงทดลองออกเป็น 2 ช่วงโดยช่วงที่ 1 เป็นช่วงปรับสัตว์ (Adjustment period) เป็นเวลา 7 วัน ช่วงที่ 2 เป็นช่วงเก็บตัวอย่าง (Sampling period) เป็นเวลา 7 วัน โดยเมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดจะสุ่มเก็บตัวอย่างอาหารและตัวอย่างมูลของ ไก่ที่ได้รับอาหารทดลองที่ผสมโครมิกซ็อกไซด์ ในส่วนของตัวอย่างมูลจะทำการเก็บลงในถุงเก็บที่มีติดจากนั้นทำการเติมกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ตามวิธีของ Mountzouris et al. (2011) ก่อนนำตัวอย่างอาหารและตัวอย่างมูลมาวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ วัตถุแห้ง โปรตีนหยาบ เยื่อใยรวม ไชมันรวม และเถ้า รวมถึงวิเคราะห์หาปริมาณโครมิกซ็อกไซด์ตามวิธีของ AOAC (1995) จากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณหาการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ ตามวิธีของ Sharifi et al. (2012) ดังสมการ

$$\text{การใช้ประโยชน์ได้ของวัตถุแห้ง (Apparent dry matter utilization)} = \frac{(\% Cr_2O_3 \text{ ในมูล} - \% Cr_2O_3 \text{ ในอาหาร}) \times 100}{\% Cr_2O_3 \text{ ในมูล}}$$

$$\text{การใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ (Apparent nutrient utilization)} = \frac{100 - [100 \times (\frac{\% Cr_2O_3 \text{ ในอาหาร}}{\% Cr_2O_3 \text{ ในมูล}} \times \frac{\% \text{ โภชนะในมูล}}{\% \text{ โภชนะในอาหาร}})]}{\% \text{ โภชนะในอาหาร}}$$

การวัดโลหิตวิทยาของไก่ไข่และองค์ประกอบของกรดไขมันในเลือด

วัดค่าโลหิตวิทยาของไก่ไข่และองค์ประกอบทางเคมีในเลือด โดยในวันสุดท้ายการทดลองทำการอดอาหารไก่ไข่ประมาณ 12 ชั่วโมง

แล้วสุ่มไก่หน่วยทดลองละ 1 ตัว จำนวน 7 ตัวต่อทรีทเมนต์เพื่อเก็บตัวอย่างเลือดโดยเจาะเลือดไก่บริเวณปีก (wing vein) ตัวละ 2 มิลลิลิตร เพื่อนำมาวัดความเข้มข้นของเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (hematocrit; Hct) ค่าเม็ดเลือดแดง (Red blood cell; RBC) ค่าเม็ดเลือดขาว (White blood cell; WBC) เม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิล (Heterophil; H) และ ลิมโฟไซต์ (Lymphocyte; L) เพื่อนำไปหาสัดส่วน H/L ratio นำซีรัมไปวิเคราะห์ค่าคอเลสเตอรอล (Cholesterol) และ ไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride) โดยใช้เครื่องตรวจเลือดอัตโนมัติ (Advia 120, Bayer, Tarrytown, NY) ด้วยวิธี enzymatic colorimetric method (CHOD-PAP method) ตามวิธี Zhou et al. (2010)

การวัดคุณภาพของไข่ไก่และองค์ประกอบทางเคมีในไข่ไก่

ในช่วง 5 วันสุดท้ายของการทดลองสัปดาห์ที่ 4 และสัปดาห์ที่ 8 ทำการเก็บตัวอย่างไข่ไก่จำนวน 1 ฟองต่อวันในแต่ละหน่วยทดลองเพื่อทำการวัดคุณภาพทางกายภาพของไข่ไก่ คือ น้ำหนักไข่ (Egg weight) ความหนาของเปลือกไข่ (Egg shell thickness) ค่าคะแนนสีของไข่แดง (Yolk color) ความสูงไข่แดง (Yolk height) ความสูงไข่ขาว (Albumin height) และหาค่า Haugh unit โดยใช้เครื่องวัดคุณภาพไข่ (Digital egg tester) จากนั้นทำการเก็บรวบรวมตัวอย่างไข่ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำส่งวัดองค์ประกอบทางเคมีของไข่ตามวิธีของ AOAC (1995) และคอเลสเตอรอลในไข่โดยใช้ cholesterol assay kit (Beijing Biological Technology Co., Beijing, China)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองทั้งหมดถูกรวบรวมและนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variances; ANOVA) ตาม

แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละทรีทเมนต์ทดลองด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมทางสถิติ (SAS, 1998) โดยกำหนดค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

องค์ประกอบทางเคมีของสูตรอาหารทดลอง

จากการศึกษาพบว่า สูตรอาหารทดลองสูตรควบคุม สูตรเสริมเปลือกโกโก้ผง และสูตรเสริม NSCOS มีโปรตีนเฉลี่ย 18.1 17.9 และ 18.0 เปอร์เซนต์ มีเยื่อใยรวมเฉลี่ย 7.22 7.54 และ 7.43 เปอร์เซนต์ มีไขมันรวมเฉลี่ย 5.01 5.04 และ 5.05 เปอร์เซนต์ เถ้าเฉลี่ย 6.45 6.47 และ 6.45 เปอร์เซนต์ และ NFE เฉลี่ย 63.2 63.0 และ 63.1 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าองค์ประกอบทางเคมีของสูตรอาหารมีค่าใกล้เคียงกันและสอดคล้องกับค่าที่ได้จากการคำนวณโดยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ เปลือกโกโก้แห้งมีโปรตีนรวมเยื่อใยรวม ไขมันรวม เถ้า NFE และปริมาณโพลีฟีนอลรวม เท่ากับ 7.03 23.8 6.52 7.60 55.1 เปอร์เซนต์ และ 61.2 กรัมต่อกิโลกรัมวัตถุดิบ ตามลำดับ ซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจาก NSCOS โปรตีนรวมเยื่อใยรวม ไขมันรวม เถ้า NFE และปริมาณโพลีฟีนอลรวม เท่ากับ 12.4 18.0 6.94 6.5 56.2 เปอร์เซนต์ และ 58.4 กรัมต่อกิโลกรัมวัตถุดิบ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจาก NSCOS มีปริมาณจุลินทรีย์แลคติก 4.01×10^7 CFU/มิลลิกรัม แสดงใน Table 2

Table 2 The chemical composition of experimental diets, dried cocoa husk and NSCOS

Items	Experimental diets			Dried cocoa husk	NSCOS
	T1	T2	T3		
Moisture, %	9.40	9.42	9.48	82.8	79.1
Chemical composition (% of DM)					
CP	18.1	17.9	18.0	7.03	12.4
CF	7.22	7.54	7.43	23.8	18.0
EE	5.01	5.04	5.05	6.52	6.94
Ash	6.45	6.47	6.45	7.60	6.50
NFE	63.2	63.0	63.1	55.1	56.2
Total polyphenol (g/kg DM)	-	-	-	61.2	58.4
Lactic acid bacteria (10^7 CFU/mg)	-	-	-	-	4.01

NSCOS=natural symbiotics from cocoa husks silage, DM=dry matter, CP=crude protein, CF=crude fat, EE=ether extract, NFE = nitrogen free extract.

ผลของการเสริมซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจากเปลือกโกโก้หมักต่อสมรรถนะการให้ผลผลิตในไก่ไข่

การวัดสมรรถนะการให้ผลผลิตของไก่ไข่ พบว่า การเสริมเปลือกโกโก้ผงและการเสริมซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจาก NSCOS ไม่ส่งผลต่อปริมาณการกินได้และเปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่ต่อวัน ($p>0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยของปริมาณการกินได้ 109.1-109.6 กรัมต่อวัน และผลผลิตไข่ 77.4-77.9 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ขณะที่ การเสริมซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจาก NSCOS ในอาหารไก่ไข่มีแนวโน้มทำให้น้ำหนักไข่เพิ่มสูงขึ้น ($p=0.07$) อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>$

0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และส่งผลทำให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไข่มีค่าต่ำสุด ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับการเสริมเปลือกโกโก้ผงและสูตรอาหารควบคุม ส่งผลทำให้ต้นทุนค่าอาหารต่อการให้ผลผลิตไข่ 1 กิโลกรัม ลดลง ดังแสดงใน Table 3 ทั้งนี้ปริมาณการกินได้ที่มีค่าไม่แตกต่างกันในแต่ละทรีทเมนต์เนื่องจากในการศึกษาครั้งนี้มีการให้อาหารแบบจำกัดโดยกำหนดปริมาณการให้อาหารประมาณ 110 กรัมวัตถุดิบแห้งต่อตัวต่อวัน น้ำหนักไข่ที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในไก่ไข่ที่ได้รับการเสริมซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจาก NSCOS ขณะที่ปริมาณการกินได้มีค่าไม่แตกต่างกันจึงส่งผลให้

เมื่อนำมาคำนวณค่าอัตราการผลิตอาหารเป็นน้ำหนักไขมีค่าต่ำสุด ซึ่งแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักไข่แสดงให้เห็นว่าไก่ไข่ได้รับโภชนาการในการสร้างฟองไข่มากขึ้นซึ่งมีความสอดคล้องกับค่าการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนาการที่สูงขึ้นในไก่ไข่ที่ได้รับการเสริมซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจาก NSCOS แสดงใน Table 4 ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นของน้ำหนักไข่ในการทดลองครั้งนี้ ผลดังกล่าวสามารถอธิบาย

โดยการเสริมซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจาก NSCOS มีส่วนผสมของจุลินทรีย์แลคติกซึ่งจัดเป็นโพรไบโอติกส์ที่มีผลต่อกระบวนการย่อย การดูดซึม และปริมาณผลผลิตที่สูงขึ้น สอดคล้องกับรายงานของ Cabuk et al. (2006) และ Zhang et al. (2012) ที่พบว่า การเสริมจุลินทรีย์แลคติกส่งผลทำให้ค่าการย่อยได้ของไก่ไข่สูง ผลผลิตไข่และน้ำหนักไข่ก็เพิ่มขึ้น

Table 3 Effects of natural symbiotics from NSCOS on productive performance of laying hen

Items	Treatments			SEM	P-value
	T1	T2	T3		
Average daily feed intake (g/day)	109.6	109.2	109.1	1.44	0.78
Hen day production (%)	77.5	77.4	77.9	2.15	0.59
Average egg weight (g)	54.1	53.9	56.0	1.56	0.07
Feed conversion ratio (kg feed/kg egg)	2.02 ^b	2.02 ^b	1.98 ^a	0.03	0.05
Feed cost per 1 kg of egg (THB)	30.3	30.6	29.9	1.85	0.10

^{a,b} Mean within the same row with difference letters are significantly different at $p \leq 0.05$, SEM=standard error of mean, T1 = a control diet (18 % of CP), T2 and 3 = control diet supplemented with 2 % of dried cocoa husk and NSCOS, respectively.

ผลของการเสริมซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจากเปลือกโกโก้ต่อการใช้ประโยชน์ได้ในไก่ไข่

จากผลการศึกษาพบว่า ไก่ไข่ที่ได้รับสูตรอาหารควบคุม สูตรอาหารเสริมเปลือกโกโก้ผง และสูตรอาหารเสริมซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจาก NSCOS มีค่าการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน ไขมัน และเถ้า ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่พบว่า ไก่ไข่ที่ได้รับสูตรอาหารเสริมเปลือกโกโก้ผง และสูตรอาหารเสริมซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจาก NSCOS มีการใช้ประโยชน์ได้ของวิตามิน อี อินทรีวิตามินและเยื่อใยสูงกว่าไก่ไข่ที่ได้รับสูตรควบคุม ($p < 0.05$) ดังแสดงใน Table 4 แสดงให้เห็นว่าการเสริมเปลือกโกโก้ผงหรือการเสริมซิมไบโอติกส์จากธรรมชาติในรูปของ NSCOS มีผลต่อการให้ประโยชน์ได้ของโภชนาการเพิ่มขึ้นทั้งนี้เนื่องจากในเปลือกผงโกโก้มีองค์ประกอบบางส่วนของโพลีฟีนอลและกรดไขมัน ซึ่งจัดเป็นอาหารของจุลินทรีย์ที่เรียกว่า โพรไบโอติกส์ ซึ่งมีคุณสมบัติสามารถทนทานต่อการย่อยในกระเพาะและลำไส้เล็กส่วนต้นและไหลผ่านไปยังลำไส้เล็กส่วนท้ายและถูกใช้ประโยชน์โดยจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ เมื่อจุลินทรีย์กลุ่มนี้ขยายจำนวนมากขึ้นจะมีบทบาทในการต่อต้านจุลินทรีย์กลุ่มที่ก่อโรคให้ลดลงทำให้สุขภาพของลำไส้ดีขึ้น สอดคล้องกับรายงานของ Topping & Clifton (2001) พบว่าการเสริมโพรไบโอติกส์มีผลทำให้จำนวนจุลินทรีย์กลุ่มที่เป็นประโยชน์เพิ่มขึ้น เช่น Lactic acid bacteria (*Bifidobacterium* spp. และ *Lactobacillus* spp.) และ *Enterococcus* spp. เป็นต้น จุลินทรีย์กลุ่มนี้จะหมักย่อยโพรไบโอติกส์อย่างสมบูรณ์และเกิดผลิตภัณฑ์ คือ แก๊ส กรดแลคติก และกรดไขมันที่ระเหยง่ายรวม (Short chain fatty acid) (กรด อะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทีริก) (Nabizadeh, 2012) ส่งผลให้ลำไส้ส่วนไส้ต้นมีนิเวศวิทยาเป็นสภาวะกรดที่ไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตและการแบ่งตัวของแบคทีเรียก่อโรค ทั้งนี้การเพิ่มกิจกรรมการหมักและปริมาณของกรดไขมันที่ระเหยง่ายรวมมีความสัมพันธ์กับความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้นและส่งผลต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรค มีผลต่อสัณฐานวิทยาของลำไส้ กล่าวคือ

มีผลให้ความสูงวิลไลและความกว้างของครีปส์เพิ่มขึ้นส่งผลทำให้ความสามารถในการย่อยได้และการดูดซึมของโภชนาการในอาหารของลำไส้เพิ่มขึ้น (Józefiak et al., 2004) นอกจากนั้นเปลือกโกโก้ยังประกอบด้วยสารกลุ่มโพลีฟีนอลและอีโอบีโอบีน ซึ่งมียับยั้งในการต้านการอักเสบและทำลายจุลินทรีย์ก่อโรคในทางเดินอาหาร (Kemperman et al., 2010) ขณะที่ซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจากเปลือกโกโก้หมักมีส่วนประกอบของสารกลุ่มโพลีฟีนอล (Polyphenol) และจุลินทรีย์ธรรมชาติในกลุ่มของแบคทีเรียแลคติกอยู่ร่วมด้วย การเสริมเปลือกผงโกโก้ที่ผ่านการหมักร่วมกับจุลินทรีย์แลคติกส่งผลทำให้ไก่ไข่ได้รับสารกลุ่ม โพรไบโอติกส์ โพลีฟีนอล และแบคทีเรียแลคติกเข้าไปในร่างกายซึ่งทำให้เพิ่มปริมาณจุลินทรีย์กลุ่มดังกล่าวในทางเดินอาหารส่งผลโดยตรงต่อสุขภาพของลำไส้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนาการที่ดีขึ้น สอดคล้องกับรายงานของ Bai et al. (2017) รายงานว่า การเสริมแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกในอาหารสามารถเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์กลุ่มของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกในลำไส้ ผลดังกล่าวส่งผลทำให้ประชากรจุลินทรีย์ก่อโรคในลำไส้ลดลง มีผลต่อความแข็งแรงและสุขภาพของลำไส้ที่ดี ส่งเสริมกระบวนการย่อยและการดูดซึมโภชนาการได้ดีขึ้น ขณะที่สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) จากเปลือกของโกโก้และเปลือกโกโก้หมัก จัดเป็นสารประกอบกลุ่มของโพรไบโอติกส์ สารประกอบกลุ่มดังกล่าวมีบทบาทในการต้านอนุมูลอิสระ กระตุ้นภูมิคุ้มกัน และกระตุ้นการหลั่งน้ำย่อยในทางเดินอาหาร แล้วจึงส่งผลต่อการย่อยได้และการดูดซึมโภชนาการที่สูงขึ้น (Qingming et al., 2010) ดังนั้นการเสริมซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจากเปลือกโกโก้หมักจึงเกิดประโยชน์จากทั้งตัวจุลินทรีย์ที่เสริมเข้าไปและจากองค์ประกอบสำคัญในรูปของโพรไบโอติกส์ โพลีฟีนอลและอีโอบีโอบีนที่พบในเปลือกโกโก้ ข้อมูลเบื้องต้นเป็นเหตุผลให้ค่าการย่อยได้ของวิตามิน อี อินทรีวิตามิน และเยื่อใย มีค่าเพิ่มขึ้นในไก่ไข่ที่ได้รับสูตรอาหารเสริมเปลือกโกโก้ผง และสูตรอาหารเสริมซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจาก NSCOS

Table 4 Effects of natural symbiotics from NSCOS on nutrient utilization of laying hens

Items	Treatments			SEM	P-value
	T1	T2	T3		
Nutrient utilization, %					
Dry matter	74.9 ^a	76.2 ^b	77.4 ^b	0.19	0.02
Organic matter	85.4 ^a	86.9 ^b	87.8 ^b	0.18	0.03
Crude protein	78.2	78.7	78.8	1.08	0.43
Crude fiber	27.4 ^a	29.9 ^b	30.4 ^b	0.48	0.05
Ether extract	89.5	89.0	89.1	3.01	0.45
Ash	30.2	29.9	32.6	3.06	0.74

^{a,b} Mean within the same row with difference letters are significantly different at $p \leq 0.05$, SEM = standard error of mean, T1 = a control diet (18 % of CP), T2 and 3 = control diet supplemented with 2 % of dried cocoa husk and NSCOS, respectively.

ผลของการเสริมซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจากเปลือกโกโก้ต่อโลหิตวิทยาในไก่ไข่

จากผลการศึกษาพบว่า ไก่ไข่ที่ได้รับสูตรอาหารควบคุม สูตรอาหารเสริมเปลือกโกโก้ผง และสูตรอาหารเสริมซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจาก NSCOS มีค่า Hematocrit hemoglobin จำนวนเม็ดเลือดแดง จำนวนเม็ดเลือดขาว และเม็ดเลือดขาวชนิด Lymphocyte ไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่พบว่า ไก่ไข่ที่ได้รับสูตรอาหารเสริมเปลือกโกโก้ผง และสูตรอาหารเสริมซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจาก NSCOS มีแนวโน้มปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิด Heterophil ลดลง ($p = 0.08$) อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และส่งผลทำให้ค่าอัตราส่วน H:L ratio มีค่าลดลง ($p < 0.05$) ดังแสดงใน Table 5 อย่างไรก็ตามค่า H:L ratio ของไก่ไข่ทดลองในครั้งนี้มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.56-0.61 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับ H:L ratio ปกติของสัตว์ปีกที่มีค่าระหว่าง 0.33-0.57 (Jain, 1993) การลดลงของค่า H:L ratio นี้เป็นผลเนื่องมาจากการการลดลงของเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิล ทั้งนี้โดยปกติหากสัตว์ได้รับสิ่งเร้าใดสิ่งเร้าหนึ่งจนเกิดความเครียดจะมีผลทำให้ค่าเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์มีค่าต่ำขณะที่เม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลมีค่าสูงขึ้น ซึ่งผลดังกล่าวเกิดจากการหลั่งฮอร์โมนแคทีโคลามีน (Catecholamine) ที่ผลิตจากต่อมหมวกไตด้านในและฮอร์โมนกลูโคคอร์ติคอยด์ (Glucocorticoid) ที่ผลิตจากต่อมหมวกไตส่วนนอกเข้าสู่กระแสเลือดเพิ่มมากขึ้น (Julian, 2000) การหลั่งฮอร์โมนดังกล่าวมีผลทำให้เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ลดลง (Harmon, 1998) และมีผลเพิ่มระดับเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลจาก Hemopoietic system ให้เข้าสู่

กระแสเลือดมากขึ้น (Jain, 1993) การลดลงของ H:L ratio ในไก่ไข่ที่ได้รับการเสริมเปลือกโกโก้ผงและซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจาก NSCOS นั้นบ่งบอกถึงการลดลงของความเครียดและการลดลงของอนุมูลอิสระในกลุ่มดังกล่าว ซึ่งเป็นผลมาจากสารกลุ่มฟลาโวนอยด์จากโกโก้มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง (Tachakittirungrod et al., 2007) ขณะเดียวกันก็มีคุณสมบัติในการช่วยเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการกำจัดอนุมูลอิสระ เช่น catalase และ glutathione peroxidase จากคุณสมบัติดังกล่าวจึงส่งผลให้สามารถช่วยลดผลเสียที่เกิดจากอนุมูลอิสระส่วนเกินที่ผลิตขึ้นในช่วงที่สัตว์เกิดความเครียดได้ ส่งผลให้ระบบภูมิคุ้มกันโรคของสัตว์ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

อย่างไรก็ตาม การศึกษาครั้งนี้พบว่าเปลือกโกโก้ผงและซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจาก NSCOS ในอาหารไก่ไข่ ไม่ส่งผลต่อปริมาณความเข้มข้นของกลูโคสและไตรกลีเซอไรด์ในกระแสเลือด ($p > 0.05$) แต่พบว่ามีแนวโน้มทำให้ปริมาณความเข้มข้นของคอเลสเตอรอลในเลือดลดลง ($p = 0.07$) อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังแสดงใน Table 5 ซึ่งหนึ่งในกลไกที่อ้างถึงในการลดระดับคอเลสเตอรอลคือการที่โปรไบโอติกส์จากซิมไบโอติกส์ธรรมชาติ NSCOS อาจส่งผลต่อการมีระดับคอเลสเตอรอลในระดับต่ำ (Hypocholesterolemic action) ผ่านกรดน้ำดี การที่จุลินทรีย์เจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนมากขึ้นสามารถช่วยย่อยสลายคอเลสเตอรอลและยับยั้งการดูดซึมผ่านผนังลำไส้ (Mikulski et al., 2012)

Table 5 Effects of natural symbiotics from NSCOS on hematological and chemical values in blood

Items	Treatments			SEM	P-value
	T1	T2	T3		
Hematological characteristics					
Hematocrit (%)	29.1	28.6	29.6	3.23	0.41
Hemoglobin (g/dL)	10.3	10.0	10.6	2.51	0.73
Red blood cell ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	2.36	2.41	2.48	1.06	0.38
White blood cell ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	192.00	188.0	199.4	9.14	0.44
Heterophil (%)	35.8	34.2	33.5	1.03	0.08
Lymphocyte (%)	58.7	59.9	59.6	3.6	0.17
H/L Ratio	0.61 ^a	0.57 ^b	0.56 ^b	0.12	0.03

Table 5 Effects of natural symbiotics from NSCOS on hematological and chemical values in blood (Continue.)

Items	Treatments			SEM	P-value
	T1	T2	T3		
Blood biochemical profile					
Glucose (mg/dl)	193.3	204.4	194.6	7.80	0.25
Triglyceride (mg/dl)	1087	934.5	995.3	27.4	0.42
Cholesterol (mg/dl)	178.0	175.2	169.1	6.91	0.07

^{a,b} Mean within the same row with difference letters are significantly different at $p \leq 0.05$, SEM = standard error of mean, T1 = a control diet (18 % of CP), T2 and 3 = control diet supplemented with 2 % of dried cocoa husk and NSCOS, respectively.

ผลของการเสริมซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจากเปลือกโกโก้ต่อคุณภาพไข่และองค์ประกอบทางเคมีของไข่ไก่

การศึกษาครั้งนี้พบว่า การเสริมเปลือกโกโก้ผงและซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจาก NSCOS ในอาหารไก่ไข่ไม่ส่งผลต่อความสูงไข่ขาว ความกว้างไข่แดง ความหนาเปลือกไข่ ($p > 0.05$) แต่พบว่า การเสริมซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจาก NSCOS ในอาหารไก่ไข่ ทำให้ความสูงไข่แดงและค่า Haugh unit มีค่าสูงขึ้น ($p < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีสารเสริม ดังแสดงใน Table 6 แสดงให้เห็นว่าการเสริมซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจาก NSCOS มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่าความสูงไข่แดงและค่า Haugh unit ซึ่งเป็นผลจากสารกลุ่มโพลีฟีนอลที่อยู่ในเปลือกโกโก้และจุลินทรีย์แลคติกที่เติมเข้าไประหว่างกระบวนการหมัก สอดคล้องกับ Chungsiriporn et al. (2022) ที่พบว่า การเสริมเปลือกโกโก้อบแห้งที่ระดับ 2-6 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารมีผล ทำให้ค่า Haugh unit เพิ่มขึ้น เมื่อทำงานร่วมกับจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ เช่น กลุ่มของจุลินทรีย์แลคติกที่พบในซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจาก NSCOS จะทำให้มีประสิทธิภาพในการเพิ่มค่า Haugh unit สอดคล้องกับหลาย

การศึกษาที่พบว่า การเสริมจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์กลุ่มต่าง ๆ เช่น กลุ่มของจุลินทรีย์แลคติกมีผลในด้านการลดของปริมาณไขมันและคอเลสเตอรอลไม่ชัดเจนนักแต่ส่งผลชัดเจนในด้านคุณภาพไข่และการยืดอายุการเก็บรักษา (Zhang et al., 2005)

นอกจากนั้นในการศึกษาครั้งนี้ยังพบว่า การเสริมเปลือกโกโก้ผงและซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจาก NSCOS ในอาหารไก่ไข่ไม่ส่งผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของไข่ในส่วนของคุณค่าโปรตีน อินทรีย์วัตถุ โปรตีน และไขมัน ($p > 0.05$) แต่พบว่า มีแนวโน้มทำให้คอเลสเตอรอลในไข่ลดลง ($p = 0.08$) อย่างไรก็ตาม ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังแสดงใน Table 6 ซึ่งผลดังกล่าว สอดคล้องกับข้อมูลผลของการเสริมเปลือกโกโก้ผงและซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจาก NSCOS ต่อปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือด พบว่ามีแนวโน้มทำให้ปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือดลดลง ดังแสดงใน Table 5 ซึ่งผลดังกล่าวแสดงถึงการดูดซึมและการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลที่ลดลง ส่งผลโดยตรงต่อปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่ที่ลดลงตามไปด้วย

Table 6 Effects of natural symbiotics from NSCOS on quality and chemical composition in egg

Items	Treatments			SEM	P-value
	T1	T2	T3		
Physical quality of eggs					
Yolk color	8.70	8.75	8.75	2.12	0.48
Yolk height (mm.)	7.83 ^a	7.85 ^a	8.75 ^b	0.03	0.01
Albumin height (mm.)	17.5	17.6	17.7	1.05	0.56
Yolk wide (mm.)	41.6	42.1	43.2	1.93	0.1
Shell thickness (mm.)	0.45	0.43	0.46	0.31	0.62
Haugh unit	78.5 ^a	80.8 ^{ab}	85.7 ^b	1.36	0.01
Chemical composition of egg					
Dry matter (%)	27.1	27.4	27.6	2.81	0.65
Organic matter (% of DM)	98.5	98.6	99.0	1.04	0.82
Crude protein (% of DM)	20.8	21.2	20.4	2.59	0.74
Ether extract (% of DM)	12.4	11.3	11.8	1.12	0.29
Cholesterol (mg/dl)	298	252	229	20.6	0.08

^{a,b} Mean within the same row with difference letters are significantly different at $p \leq 0.05$, SEM = standard error of mean, T1 = a control diet (18 % of CP), T2 and 3 = control diet supplemented with 2 % of dried cocoa husk and NSCOS, respectively.

สรุปผลการวิจัย

จากผลการศึกษาสามารถสรุปได้ว่า การเสริมเปลือกโกโก้ผง และซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจาก NSCOS ในอาหารไก่ที่ระดับ 2 เปอร์เซ็นต์ สามารถทำให้ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นไข่ การย่อยได้ของโภชนะ คุณภาพความสูงไข่แดงและค่า Haugh unit ดีขึ้น และมีผลทำให้ค่า H/L Ratio ลดลง แสดงให้เห็นว่าเปลือกโกโก้ผงและซิมไบโอติกส์ธรรมชาติจาก NSCOS สามารถใช้เป็นวัตถุดิบเสริมในอาหารไก่ไข่ได้ โดยมีผลเชิงบวกต่อประสิทธิภาพการให้ผลผลิตไข่ ประสิทธิภาพการย่อยอาหาร และคุณภาพไข่

References

- Association of official analytical chemists (AOAC). (1995). *Official methods of analysis* (16th ed.). Washington D. C, USA: Association of official analytical chemists.
- Bai, K., Huang, Q., Zhang, J., He, J., Zhang, L., & Wang, T. (2017). Supplemental effects of probiotics *Bacillus subtilis* fmbJon growth performance, antioxidant capacity, and meat quality of broilers chickens. *Poultry Science*, 96, 74–82. doi:10.3382/ps/pew246.
- Bureenok, S., Tamaki, M., Kawamoto, Y., & Nakada, T. (2007). Additive effects of green tea on fermented juice of the epiphytic lactic acid bacteria (FJLB) and the fermentative quality of Rhodes grass silage. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 20, 920-924. doi:10.5713/ajas.2007.920
- Cabuk, M., Bozkurt, M., Alcicek, A., Catli, A. U., & Baser, K. H. C. (2006). Effect of a dietary essential oil mixture on performance of laying hens in the summer season. *South African Journal of Animal Science*, 36(4), 215-221.
- Chaiwong, S., Yakab, M., Kanthiya, N., Nopparatmaitree, M., Sintala, K., Kullama, P., Boarapa, R., & Srakaew, W. (2023). Effects of dietary corn malt-sactic on growth performance, nutrient digestibility and microbial population in posterior gut of broilers. *Khon Kaen Agriculture Journal*, 51(3), 547-560. doi:10.14456/kaj.2023.42. (in Thai)
- Chungsiriporn, J., Pongyeela, P., & Chairerk, N. (2022). Effect of using dried cocoa pod husk as an ingredient in laying hen feed on egg production and quality. *Journal of Science and Technology, Ubon Ratchathani University*, 24(3), 11-19. (in Thai)
- Fenton, T. W., & Fenton, M. (1979). An improved procedure for the determination of chromic oxide in feed and feces. *Canadian Journal of Animal Science*, 170(1–2), 117-121. doi:10.4141/CJAS79-081.
- Harmon, B. G. (1998). Avian heterophils in inflammation and disease resistance. *Poultry Science*, 77(7), 972-977. doi: 10.1093/ps/77.7.972.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้ขอขอบคุณหน่วยบริหารและจัดการทุนวิจัยด้านการพัฒนาระดับพื้นที่ (บพท.) ที่สนับสนุนงบประมาณอุดหนุนในการดำเนินงานปีงบประมาณ 2565 ขอขอบคุณทุนส่งเสริมและสนับสนุนกลุ่มวิจัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่สนับสนุนงบประมาณอุดหนุนในการดำเนินงานปีงบประมาณ 2566 และขอบคุณศาสตราจารย์ ดร. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา น่าน ที่อนุเคราะห์สถานที่ดำเนินการทดลองและห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์

- Hou, W. C., Lin, R. D., Cheng, K. T., Hung, Y. T., Cho, C. H., Chen, C. H., Hwang, S. Y., & Lee, M. H. (2003). Free radical-scavenging activity of Taiwanese native plants. *Phytomedicine*, 10, 170-175. doi: 10.1078/094471103321659898.
- Hu, C. H., Zuo, A. Y., Wang, D. G., Pan, H. Y., Zheng, W. B., Qian, Z. C., & Zou, X. T. (2011). Effects of broccoli stems and leaves meal on production performance and egg quality of laying hens. *Animal Feed Science and Technology*, 170(1–2), 117-121. doi:10.1016/j.anifeedsci.2011.07.019.
- Jain, N. C. (1993). *Essential of veterinary hematology*. Philadelphia, USA: Lea & Febiger.
- Julian, R. J. (2000). Physiological management and environmental triggers of the ascites syndrome: a review. *Poultry International: Avian Pathology*, 29(6), 519-527. doi: 10.1080/03079450020016751.
- Józefiak, D., Rutkowski, A., & Martin, S. A. (2004). Carbohydrate fermentation in the avian ceca: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 113, 1–15. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2003.09.007.
- Kemperman, R. A., Bolca, S., Roger, L. C., & Vaughan, E. E. (2010). Novel approaches for analysing gut microbes and dietary polyphenols: challenges and opportunities. *Microbiology*, 156, 3224–3231. doi: 10.1099/mic.0.042127-0.
- Lokhande, A., Ingale, S. L., Lee, S. H., Kim, J. S., Lohakare, J. D., Chae, B. J., & Kwon, I. K. (2013). The effects of *Rhodobacter capsulatus* KCTC-2583 on cholesterol metabolism, egg production and quality parameters during the late laying periods in hens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 26(6), 831-837. doi: 10.5713/ajas.2012.12559.
- Makivic, L., Glisic, M., Boskovic, M., Djordjevic, J., Markovic, R., Baltic, M., & Sefer, D. (2019). Performances, ileal and cecal microbial populations and histological characteristics in broilers fed diets supplemented with lignocellulose. *Journal of Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*,

- 25, 83-91. doi: 10.9775/ kvfd.2018.20356.
- Mikulski, D., Jankowski, J., Naczmanski, J., Mikulska, M., & Demey, V. (2012) . Effects of dietary probiotics (*Pediococcus acidilactici*) supplementation on performance, nutrient digestibility, egg traits, egg yolk cholesterol, and fatty acid profile in laying hens. *Poultry Science*, 91(10), 2691-2700. doi: 10.3382/ps.2012-02370.
- Mountzouris, K. C., Paraskevas, V., Tsirtsikos, P., Palamidi, I., Steiner, T., Schatzmayr, G., & Fegeros, K. (2011) . Assessment of a phytogenic feed additive effect on broiler growth performance, nutrient digestibility and caecal microflora composition. *Animal Feed Science and Technology*, 168(3) , 223-231. doi: 10.1016/j.anifeeds.2011.03.020.
- Nabizadeh, A. (2012). The effect of inulin on broiler chicken intestinal microflora, gut morphology, and performance. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 21, 725–734. doi: 10.22358/jafs/ 66144/2012.
- National Research Council (NRC). (1994). *Nutrient requirements of poultry* (9th ed.). USA: National Academy Press.
- Neter, J., Kutner, M. H., Nachtsheim, C. J., & Wasserman, W. (1996). *Applied linear statistical models* (4thed.). New York, USA: WCB McGraw-Hill.
- Nopparatmaitree, M., Panthong, A., Paengkoum, S., & Saenphoom, P. (2014). Effects of asparagus trims by-product supplementation in laying hens diets on nutrient digestibility and productive performance. *Silpakorn University Science and Technology Journal*, 8(1), 74-82. doi: 10.14456/sustj.2014.6.
- Qingming, Y., Xianhui, P., Weibao, K., Hong, Y., Yidan, S., Li, Z., Yanan, Z., Yuling, Y., Lan D., & Guoan, L. (2010). Antioxidant activities of malt extract from barley (*Hordeum vulgare* L.) toward various oxidative stress *in-vitro* and *in-vivo*. *Food Chemistry*, 118(1), 84-89. doi: 10.1016/j.foodchem. 2009.04.094.
- Ragab, H. I., Abdel Ati, K. A., Kijora, C., & Ibrahim, S. (2012). Effect of different levels of the processed lab pureus seeds on laying performance, egg quality and serum parameters. *International Journal of Poultry Science*, 11(2), 131-137. doi:10.3923/ijps.2012.131.137.
- Statistical Analysis System (SAS). (1 9 9 8). *User's guide: statistic, version 6* (12th ed.). North Carolina, USA: SAS Institute Inc.
- Sharifi, S. D., Dibamerhr, A., Lotfollahian H., & Baurhoo, B. (2012). Effects of flavomycin and probiotics supplementation to diets containing different sources of fat on growth performance, intestinal morphology, apparent metabolizable energy, and fat digestibility in broiler chickens. *Poultry Science*, 91(4), 918-927. doi: 10.3382/ps.2011-01844.
- Srakaew, W., Leepradit, P., Chaiwong, S., Boarapa, R., Sintala, K., & Kuha, K. (2021). Ensiling corn malt on chemical composition and gas production kinetic by using *in vitro* gas production technique. *Khon Kaen Agriculture Journal*, 49(Suppl.1), 496-501. (in Thai)
- Tachakittirungrod, S., Okonogi, S., & Chowwanapoonpohn, S. (2007). Study on antioxidant activity of certain plant in Thailand: mechanism of antioxidant action of guava leaf extract. *Food Chemistry*, 103(2), 381-388. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.07.034.
- Topping, D. L., & Clifton, P. M. (2001). Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and non starch polysaccharides. *Physiological Reviews*, 81, 1031-1064. doi: 10.1152/physrev.2001.81.3.1031.
- Younes, A., Li, M., & Karboune, S. (2022). Cocoa bean shells: a review into the chemical profile, the bioactivity and the biotransformation to enhance their potential applications in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(28), 9111-9135. doi: 10.1080/10408398.2022.2065659.
- Zhang, L., Li, X., Xu, X., & Zeng, F. (2005). Correlation between antitumor activity, molecular weight, and conformation of lentinan. *Carbohydrate Research*, 340(8), 1515-1521. doi: 10.1016/j.carres.2005.02.032.
- Zhang, M., Zou, X. T., Li, H., Dong, X. Y., & Zhao, W. (2012). Effect of dietary gamma-aminobutyric acid on laying performance, egg quality, immune activity and endocrine hormone in heat-stressed Roman hens. *Animal Science Journal*, 83(2), 141-147. doi: 10.1111/j.1740-0929.2011.00939.x.
- Zhao, R., Wang, Y., Zhou, Y., Ni, Y., Lu, L., Grossmann, L., & Chen, J. (2004). Dietary daidzein influences laying performance of ducks (*Anas platyrhynchos*) and early post-hatch growth of their hatchlings by modulating gene expression. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 138(4), 459-466. doi: 10.1016/j.cbpb.2004.06.004.
- Zhou, X., Wang, Y., Gu, Q., & Li, W. (2010). Effect of dietary probiotics, *Bacillus coagulans*, on growth performance, chemical composition, and meat quality of Guangxi yellow chicken. *Poultry Science*, 89(3), 588-593. doi: 10.3382/ps.2009-00319.

Research article

Supplementation of natural symbiotics from cocoa husk silage on production performance, blood hematological values and egg quality in laying hens

Wuttikorn Srakaew¹, Suthathip Chaiwong¹, Tanyatip Jittaniramon¹,
Nonthapath Raunghora¹, Ratchanee Boarapa¹, Apichaya Feepakproa²,
Supanida Thongpan², Thofan Kakham² and Tansiphorn Na Nan^{2,3*}

¹ Department of Animal science, Faculty of Science and Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Lanna Nan, Phu Phiang District, Nan, 55000 Thailand

² The Innovation of Sustainable Thai Cacao Development Research Unit, Chulalongkorn University, Pathumwan, Bangkok, 10330 Thailand

³ School of Agricultural Resources, Chulalongkorn University, Pathumwan, Bangkok, 10330 Thailand

ARTICLE INFO

Article history

Received: 17 November 2024

Revised: 28 March 2025

Accepted: 23 April 2025

Online published: 26 May 2025

Keyword

natural symbiotics

cocoa husk

production performance

egg quality

laying hens

ABSTRACT

Natural symbiotics from cocoa husk silage (NSCOS) is an additive product derived from fermented cocoa husks using lactic acid bacteria obtained from Napier grass leaves. It can be used as a dietary supplement in animal feed. The objective of this experiment was to study the effects of NSCOS on production performance and egg quality in laying hens. A total of 144 Lohmann Brown laying hens, 50 weeks of age, were used in the experiment. The experimental treatments were arranged in a completely randomized design (CRD) and divided into three groups according to dietary treatments as follows: Group 1 received a control diet (18% crude protein), Group 2 received a diet supplemented with 2% dried cocoa husk, and Group 3 received a diet supplemented with 2% NSCOS. The experiment was conducted for 60 days. The results showed that supplementation with dried cocoa husk or NSCOS had no significant effect on feed intake or egg production ($p>0.05$). However, the feed conversion ratio to egg weight was significantly lower in hens that received the NSCOS-supplemented diet ($p<0.05$). The utilization of dry matter, organic matter, and crude fiber increased, while the heterophil-to-lymphocyte (H:L) ratio in blood was decreased ($p<0.05$) in both the dried cocoa husk and NSCOS groups. Additionally, yolk height and Haugh unit values were significantly increased ($p<0.05$) in hens fed the NSCOS-supplemented diet compared to the control and dried cocoa husk groups. These findings indicate that natural symbiotics derived from NSCOS can be used as a feed additive for laying hens, with positive effects on feed conversion efficiency and egg quality.

*Corresponding author

E-mail address: Tansiphorn.j@chula.ac.th (T. Na Nan)

Online print: 26 May 2025 Copyright © 2025. This is an open access article, production, and hosting by Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University. <https://doi.org/10.14456/paj.2025.10>