



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

ปริญญา

สัปดาห์

สัปดาห์

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การเสริมสารสกัดหยาบจากใบฝรั่งในอาหารไก่ไข่ต่อคุณลักษณะทางการให้ผลผลิตไข่
คุณภาพไข่ ระดับคอเลสเตอรอลในไข่แดงและพลาสมา และความเครียดจากภาวะ
ออกซิเดชั่น

Supplementation of Crude Extract from Guava Leaves (*Psidium guajava* Linn.) in
Laying Hen Diets on Egg Production Performance and Quality, Egg Yolk and Plasma
Cholesterol Levels and Oxidative Stress

นามผู้วิจัย นางสาวแววรี บุญเทียม

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์สุภาพร อีสริโยดม, D.Agr.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ม.ล. สุนทรานี ทองใหญ่, Dr.3^{eme} Cycle)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์ณัฏฐรา สีนบัวทอง, วท.ด.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

สิงห์สีฉวี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การเสริมสารสกัดหยาบจากใบฝรั่งในอาหารไก่ไข่ต่อคุณลักษณะทางการให้ผลผลิตไข่ คุณภาพไข่
ระดับคอเลสเตอรอลในไข่แดงและพลาสมา และความเครียดจากภาวะออกซิเดชั่น

Supplementation of Crude Extract from Guava Leaves (*Psidium guajava* Linn.) in Laying Hen
Diets on Egg Production Performance and Quality, Egg Yolk and Plasma Cholesterol Levels and
Oxidative Stress

โดย

นางสาวแววรี บุญเทียม

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

พ.ศ. 2553

แวนวารี บุญเทียม 2553: การเสริมสารสกัดหยาบจากใบฝรั่งในอาหารไก่ไข่ต่อคุณลักษณะทางการให้ผลผลิตไข่ คุณภาพไข่ ระดับคอเลสเตอรอลในไข่แดงและพลาสมา และความเครียดจากภาวะออกซิเดชัน ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาสัตวบาล ภาควิชาสัตวบาล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์สุภาพร อิศริโยดม, D.Agr. 115 หน้า

การเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งในระดับ 0 10 20 และ 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารของไก่ไข่ที่มีการเลี้ยงในสภาพหนาแน่นกว่าปกติ (เลี้ยง 4 ตัว/กรง: พื้นที่ 240 ตารางเซนติเมตรต่อตัว) เปรียบเทียบกับกรณีการเลี้ยงในสภาพหนาแน่นปกติ (เลี้ยง 3 ตัว/กรง: พื้นที่ 320 ตารางเซนติเมตรต่อตัว) ต่อสมรรถภาพทางการให้ผลผลิตไข่ คุณภาพไข่ องค์ประกอบฟองไข่ ระดับคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมา คอเลสเตอรอลในไข่แดง ค่าสัดส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลล์และลิมโฟไซต์ สารต้านอนุมูลอิสระรวม และการเกิดปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน โดยใช้ไก่ไข่สายพันธุ์ Hisex Brown อายุ 28 สัปดาห์ จำนวน 380 ตัว แบ่งออกเป็น 5 กลุ่มๆ ละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 15 ตัว (กลุ่มที่ 1) และ 20 ตัว (กลุ่มที่ 2-5) ให้สัตว์ได้รับอาหารทดลองเป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่า การเลี้ยงไก่ในสภาพหนาแน่นกว่าปกติไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อปริมาณอาหารที่กิน ปริมาณอาหารต่อผลผลิตไข่น้ำหนัก 1 กิโลกรัม และการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวของแม่ไก่ ($P>0.05$) แต่มีผลทำให้ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่เฉลี่ยตลอดการทดลอง และเปอร์เซ็นต์การเลี้ยงรอดมีค่าต่ำกว่ากลุ่มที่เลี้ยงในสภาพหนาแน่นปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) การเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งในระดับที่เพิ่มขึ้นในสูตรอาหาร สามารถช่วยปรับปรุงการให้ผลผลิตไข่ของแม่ไก่ได้ตามลำดับ ซึ่งการเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งในระดับ 20 และ 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร สามารถช่วยให้น้ำหนักฟองไข่ดีขึ้น ($P<0.05$) แต่ไม่พบความแตกต่างของค่าออกซิไดซ์ สีไข่แดง ความหนาของเปลือกไข่ ตลอดจนองค์ประกอบของฟองไข่ ($P>0.05$) การเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งที่ระดับ 20 และ 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ทำให้ระดับคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมา คอเลสเตอรอลในไข่แดง ($P<0.01$) ค่าสัดส่วนเม็ดเลือดขาวเฮเทอโรฟิลล์ต่อลิมโฟไซต์ (heterophil-to-lymphocyte ratio: H:L ratio) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) จากกลุ่มควบคุมทั้งสอง โดยกลุ่มที่เสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งในระดับต่างๆ มีค่าความสามารถรวมของสารต้านอนุมูลอิสระในพลาสมา (total antioxidant capacity: TAC) สูงขึ้นตามลำดับ ($P<0.01$) ในขณะที่ค่าความเข้มข้นของมาลอนไดแอลดีไฮด์ (malondialdehyde: MDA) ซึ่งใช้เป็นดัชนีบ่งชี้เปอร์ออกซิเดชันของไขมันในรูปของค่า thiobarbituric acid reactive substance (TBARs) มีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุม (กลุ่มที่ 1 และ 2) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

Waewaree Boonthium 2010: Supplementation of Crude Extract from Guava Leaves (*Psidium guajava* Linn.) in Laying Hen Diets on Egg Production Performance and Quality, Egg Yolk and Plasma Cholesterol Levels and Oxidative Stress. Master of Science (Agriculture), Major Field: Animal Science, Department of Animal Science.
Thesis Advisor: Associate Professor Supaporn Isariyodom, D.Agr. 115 pages.

Supplementation of crude extract product from guava leaves (*Psidium guajava* Linn.) 0, 10, 20 and 30 mg/kg diet levels of layer under intensive rearing condition (4 birds/cage: area 240 cm²/bird) compared with the control group (3 birds/cage: area 320 cm²/bird) on egg production performance and quality, egg composition, plasma cholesterol and triglyceride, yolk cholesterol, total antioxidant capacity and lipid peroxidation. Three hundred and eighty layers aging 28 weeks were divided into five groups with four replicates. Each replicate consisted of 15 layers in control group (group 1) and 20 layers in group 2-5 for 16 weeks. The results showed that rearing in the intensive condition (240 cm²/bird) had no significant effect on feed intake, feed consumption per kilogram of egg produced and body weight ($P>0.05$). However, egg production and egg weight as well as mortality rate were significantly affected ($P<0.05$). Supplementation of crude extract product from guava leaves could improve there deteriorated effects. The group fed 20 and 30 mg/kg diet of crude extract product from guava leaves could improve egg weight ($P<0.05$), But no significant differences were found on haugh unit, egg yolk color, shell thickness and egg composition ($P>0.05$). The group fed 20 and 30 mg/kg diet of crude extract product from guava leaves showed significant reduction of plasma cholesterol, triglyceride, egg yolk ($P<0.01$), heterophil-to-lymphocyte ratio (H:L) when compared to the control group. Total antioxidant capacity (TAC) in the plasma significantly increased relative to the elevated dietary levels of crude extract product from guava leaves. While, plasma malondialdehyde (MDA) a lipid peroxidation index express are thiobarbituric acid reactive substance (TBARs), value were significant by lower than the control groups (gr. 1 and 2)

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สุภาพร อิศริโยดม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลักที่กรุณาให้คำปรึกษาด้านการทดลอง เรียบเรียง ตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ และให้โอกาสทางการศึกษาอย่างใกล้ชิดตลอดจนเป็นแบบอย่างที่ดีในการดำรงชีวิต ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร. ม.ล. สุนทรานี ทองใหญ่ ดร.นุชรา สันบัวทอง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม รองศาสตราจารย์ ดร. นวลจันทร์ พารักษ์า ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำในการวิจัยและเรียบเรียงวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศกร คุณวุฒิฤทธิธ ปรธานการสอบ ที่กรุณาให้คำแนะนำด้านการวิเคราะห์ข้อมูล และ รองศาสตราจารย์ ดร. ไพโชค ปัญจะ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และวิทยานิพนธ์นี้ได้รับการสนับสนุนส่วนหนึ่งจาก ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ ที่สนับสนุนทุนการศึกษาและวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชนินทร์ ศิริวัฒนวานิช บุคลากรภาควิชา สรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ ฝ่ายเครื่องมือวิทยาศาสตร์กลาง สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ห้องปฏิบัติการสรีรวิทยาพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตสาหกรรมเกษตร ที่ให้ความอนุเคราะห์ใช้เครื่องมือ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จินดาพร ฐิพัฒนา วงษ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบใบฝรั่ง และเจ้าหน้าที่ฟาร์มไก่หลวงสุวรรณ วาจากกลกิจทุกท่าน

ท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อโกวิท คุณแม่รัศมี น้องชายอนุภาพ บุญเทียม และพี่ชายกันตภณ นฤวัฒน์พรณ์ ที่ให้ความรักและให้โอกาสทางการศึกษา คุณยายผู้ล่วงลับที่เป็นที่พึ่งทางจิตใจ ตลอดจนผู้มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่านที่ไม่ได้กล่าวไว้ ณ ที่นี้ด้วย คุณค่าและประโยชน์จากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ขอมอบแด่มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และที่สำคัญยิ่งคือ วงการการเลี้ยงสัตว์ของประเทศไทย เพื่อเป็นแนวทางการนำสมุนไพรมาใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อไปในอนาคต

แหววรี บุญเทียม

กุมภาพันธ์ 2553

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(5)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	4
การตรวจเอกสาร	5
อุปกรณ์และวิธีการ	33
อุปกรณ์	33
วิธีการ	36
ผลการทดลองและวิจารณ์	40
สรุปและข้อเสนอแนะ	59
สรุป	59
ข้อเสนอแนะ	60
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	61
ภาคผนวก	88
ภาคผนวก ก อาหารสูตรเปรียบเทียบ	89
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ทางเคมี	91
ภาคผนวก ค ภาพจากการทดลอง	100
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	115

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ค่าเฉลี่ยปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวัน และปริมาณอาหารที่กินต่อผลผลิตไข่ 1 กิโลกรัม ของไก่ไข่ช่วงอายุ 28-44 สัปดาห์	40
2	ค่าเฉลี่ยการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว และเปอร์เซ็นต์การเลี้ยงรอดของไก่ไข่ ช่วงอายุ 28-44 สัปดาห์	41
3	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่ (hen-house production) และน้ำหนักไข่ของไก่ไข่ ช่วงอายุ 28-44 สัปดาห์	43
4	ค่าเฉลี่ยสอพฟิวนิต และสีไข่แดง ของไก่ไข่ช่วงอายุ 28-44 สัปดาห์	44
5	ค่าเฉลี่ยความหนาเปลือกไข่ และเปอร์เซ็นต์ไข่แดง ของไก่ไข่ช่วงอายุ 28-44 สัปดาห์	44
6	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ส่วนประกอบของไข่ขาว และเปลือกไข่ ของไก่ไข่ ช่วงอายุ 28-44 สัปดาห์	45
7	ค่าเฉลี่ยระดับคอเลสเตอรอลในเลือด (หน่วย: มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)	47
8	ค่าเฉลี่ยไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมา (หน่วย: มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)	49
9	ค่าเฉลี่ยระดับคอเลสเตอรอลในไข่แดง (หน่วย: มิลลิกรัมต่อกรัมไข่แดง)	51
10	ค่าสัดส่วนของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮมโทโรฟิลล์ต่อลิมโฟไซต์ (H:L ratio)	53
11	ค่าเฉลี่ยความสามารถรวมของสารต้านอนุมูลอิสระในการรีดิวซ์เหล็กเฟอริก (TAC) (หน่วย: ไมโครลิตรต่อลิตร)	55
12	ค่าของผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งต่อการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมันในรูปของค่า TBARs (หน่วย: นาโนโมลต่อลิตร)	57

ตารางผนวกที่

ก1	ส่วนประกอบของอาหารไก่ไข่สูตรเปรียบเทียบที่ใช้ในการทดลอง	90
----	---	----

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ฝรั่ง	6
2	โครงสร้างของไฮโดรไลซ์เอเบิลแทนนิน (hydrolysable tannin)	19
3	โครงสร้างของคอนเดนซ์แทนนิน (condensed tannin)	20
4	โครงสร้างทางเคมีของสารเคอร์ซีติน	25
5	กลไกการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน	30
6	ระดับคอเลสเตอรอลในพลาสมาของแม่ไก่ที่อายุต่างๆ กัน	48
7	ระดับไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมาของแม่ไก่ที่อายุต่างๆ กัน	50
ภาพผนวกที่		
ค1	ลักษณะภายในโรงเรือนทดลอง	101
ค2	เปรียบเทียบการเลี้ยงไก่ปกติ (3 ตัว/กรง) และแบบหนาแน่นกว่าปกติ (4 ตัว/กรง)	101
ค3	การชั่งน้ำหนักไก่	102
ค4	การเจาะเลือดไก่บริเวณเส้นเลือดดำ	102
ค5	การเก็บตัวอย่างพลาสมา	103
ค6	เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)	103
ค7	การชั่งน้ำหนักไข่	104
ค8	การวัดความสูงไข่ขาวโดยใช้เครื่อง albumen height gauge	104
ค9	การเก็บตัวอย่างไข่แดง	105
ค10	การระเหยแห้งโดยใช้เครื่อง rotary evaporator	105
ค11	การชั่งน้ำหนักไข่แดง	106
ค12	การอุ่นสารใน water bath	106
ค13	เครื่อง GC (gas chromatograph)	107
ค14	micro syringe	107
ค15	การฉีดสารสกัดไข่แดง	108

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
ค16	จอประมวลผลเครื่อง GC
ค17	เครื่อง multimode detector
ค18	จอประมวลผลเครื่อง multimode detector
ค19	เปอร์เซ็นต์การเลี้ยงรอดของแม่ไก่ช่วงอายุ 28-44 สัปดาห์ ที่ระดับนัยสำคัญ $P < 0.01$
ค20	เปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่ของแม่ไก่ช่วงอายุ 28-44 สัปดาห์ ที่ระดับนัยสำคัญ $P < 0.05$
ค21	น้ำหนักไข่ของแม่ไก่ช่วงอายุ 28-44 สัปดาห์ ที่ระดับนัยสำคัญ $P < 0.05$
ค22	คอเลสเตอรอลในไข่แดงของแม่ไก่ที่อายุการทดลองต่างๆ กัน ที่ระดับนัยสำคัญ $P < 0.01$
ค23	คอเลสเตอรอลในพลาสมาของแม่ไก่ที่อายุการทดลองต่างๆ กัน
ค24	ระดับไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมาของแม่ไก่ที่อายุการทดลองต่างๆ กัน
ค25	ค่าสัดส่วนจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮมโทโรฟิลล์ต่อลิมโฟไซต์ของแม่ไก่ที่อายุการทดลองต่างๆ กัน
ค26	ค่าสารต้านอนุมูลอิสระรวมในพลาสมาของแม่ไก่ที่อายุการทดลองต่างๆ กัน
ค27	ระดับการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมันในรูปของค่า TBARs ของแม่ไก่ที่อายุการทดลองต่างๆ กัน

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ALP	=	Alkaline phosphatase
BUN	=	Blood urea nitrogen
DMCS	=	Dimethyldichlorosilane
DMF	=	Dimethylformamide
DNA	=	Deoxyribonucleotide
DPPH	=	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
ELISA	=	Enzyme linked immunosorbent assay
EU	=	European union
FEC	=	Faecal egg count
FID	=	Flame ionized detector
FRAP	=	Ferric reducing antioxidant power assay
FRAP	=	Ferric reducing antioxidant power assay
GPx	=	Glutathione peroxidase
GSH	=	Reduce glutathione
H:L	=	Heterophill-to-lymphocyte
H ₂ O ₂	=	Hydrogenperoxide
HDL	=	High density lipoprotein
HMDS	=	Hexamethyldisilazane
HMG-CoA	=	3-hydroxy-3-methyl glutaryl CoA
HNE	=	Hydroxynonenal
LDL	=	Low density lipoprotein
LOO [·]	=	Lipid peroxy radical
LOOH	=	Lipid hydroperoxide
MDA	=	Malondialdehyde
MIC	=	Minimal inhibitory concentration

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

MNTC	=	Maximum non-toxic concentration
PDA	=	Paper disc agar
PGG	=	Pentagalloyl glucose
PTP1B	=	Protein tyrosine phosphatase 1B
RF	=	Response factor
ROO [·]	=	Peroxyl radical
ROS	=	Reactive radical species
SE	=	Standard error
SGOT	=	Serum glutamic oxaloacetic transaminase
SGPT	=	serum glutamic pyruvic transaminase
SOD	=	Superoxide dismutase
TAC	=	Total antioxidant capacity
TBAR _s	=	Thiobarbituric reactive substance
TMCS	=	Trimethylchlorosilane
TPTZ	=	2,4,6-tripyridyl-s-triazine
TSS	=	Technical services and supplies

การเสริมสารสกัดหยาบจากใบฝรั่งในอาหารไก่ไข่ต่อคุณลักษณะทางการให้ผลผลิตไข่
คุณภาพไข่ ระดับคอเลสเตอรอลในไข่แดงและพลาสมา และความเครียดจากภาวะ
ออกซิเดชัน

**Supplementation of Crude Extract from Guava Leaves (*Psidium guajava* Linn.)
in Laying Hen Diets on Egg Production Performance and Quality, Egg Yolk and
Plasma Cholesterol Levels and Oxidative Stress**

คำนำ

อุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ปีกของประเทศไทยได้พัฒนาไปอย่างรวดเร็ว เนื่องจากความต้องการบริโภคที่สูงขึ้นทั้งตลาดภายในประเทศและต่างประเทศ ในปี พ.ศ. 2550 ประเทศไทยมีไก่ไข่ประมาณ 35 ล้านตัว ให้ผลผลิตไข่ประมาณ 10,335 ล้านฟอง คิดเป็นมูลค่า 20,400 ล้านบาท โดยสามารถผลิตไข่ไก่เพิ่มขึ้นในอัตราเฉลี่ยร้อยละ 3 ต่อปี ส่งผลให้ผลผลิตไข่ไก่เข้าสู่ตลาดอย่างต่อเนื่อง (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2550) และเกิดการขยายตัวของอุตสาหกรรมเลี้ยงสัตว์ปีกเป็นแบบ intensive อย่างไรก็ดี แม้จะมีการปรับสภาพแวดล้อมภายในโรงเรือนเพื่อให้ไก่อยู่อย่างสบายแล้ว การเลี้ยงไก่อย่างหนาแน่นมีผลต่อภาวะเครียด และหากการระบายอากาศไม่ดี วัสดุรองพื้นมีความชื้นสูง ทำให้แอมโมเนียในคอกสูง ล้วนเป็นสาเหตุของการติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจ (ทัศนีย์, 2540; Hofstad *et al.*, 1984) โดยความเครียดจะกระตุ้นให้ร่างกายสร้างอนุมูลอิสระในระดับสูง (Dorge, 2002; Lin *et al.*, 2004) ส่งผลให้ร่างกายเสียสมดุลรีดอกซ์ (redox reaction) โดยทำให้เกิดความเครียดจากภาวะออกซิเดชัน (Sies, 1997) ซึ่งสารอนุมูลอิสระจะเข้าทำลายสารชีวโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์ ได้แก่ โปรตีน ดีเอ็นเอ และไขมัน ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เซลล์ทำหน้าที่ผิดปกติและเกิดการตาย (Buttke and Sandstorm, 1994) กัดการทำงานของระบบเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ รวมทั้งตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันโรค เซลล์เม็ดเลือดแดง หัวใจและม้าม กล้ามเนื้อและอวัยวะต่อมน้ำเหลืองลดลง และเพิ่มอัตราส่วนเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลล์ต่อลิมโฟไซต์ (heterophil-to-lymphocyte: H:L ratio; Regnier and Kelly, 1981; Gross and Siegel, 1983; Maxwell, 1993; Ohtsuka *et al.*, 1998; Rajashree and Puvanakrishnan, 1998; Pereira *et al.*, 1999; Orzechowski *et al.*, 2000) การใช้ปฏิชีวนะเพื่อเร่งการเจริญเติบโตและป้องกันโรคในสัตว์ติดต่อกันเป็นเวลานาน จะเพิ่มความเสี่ยงต่อปัญหาการคือ

ยาในคนและหอยา/ปฏิชีวนะตกค้างในผลิตภัณฑ์อาจเป็นสารก่อให้เกิดมะเร็ง และโรคภูมิแพ้ (Bonten *et al.*, 2001; Chopra and Roberts, 2001) นอกจากนี้ การเสริมปฏิชีวนะในอาหารสัตว์เพื่อเร่งการเจริญเติบโตยังได้รับการต่อต้านจากสหภาพยุโรป (อียู) โดยห้ามใช้ปฏิชีวนะในอาหารสัตว์ที่เป็นอาหารมนุษย์ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม 2549 จากปัญหาดังกล่าวจึงจำเป็นต้องหาสิ่งที่สามารถนำมาทดแทนปฏิชีวนะ โดยไม่มีผลเสียต่อการผลิตสัตว์ และผู้บริโภค

การใช้สารเสริม (feed additives) ชนิดอื่นทดแทนสารปฏิชีวนะเพื่อวัตถุประสงค์เร่งการเจริญเติบโต เพิ่มผลผลิต ลดความเครียด และป้องกันโรค เป็นต้น อาจใช้ในรูปแบบของโปรไบโอติกส์ (probiotics) 프리ไบโอติกส์ (prebiotic) กรดอินทรีย์ (organic acid) หรือสมุนไพร (medicinal plants) การใช้สมุนไพรบางชนิดเป็นอาหารเสริมเพื่อวัตถุประสงค์ดังกล่าวนี้ มีการใช้มาเป็นเวลานานในรูปแบบของสมุนไพรดิบ (crude drug) แต่การใช้ในรูปแบบของสมุนไพรดิบ จะมีปัญหาเรื่องความไม่แน่นอนของปริมาณสารออกฤทธิ์ที่อยู่ในสมุนไพร เพราะสายพันธุ์พืช สถานที่ปลูก ความสมบูรณ์ของดิน-น้ำ ภูมิอากาศ อายุการเก็บเกี่ยว ล้วนมีผลต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ที่อยู่ในสมุนไพร และการใช้ในรูปแบบสมุนไพรดิบจะต้องใช้ในปริมาณมาก ทำให้ปริมาณเชื้อที่สัตว์ได้รับสูงมีผลต่อการกินอาหารของสัตว์ และต้องเพิ่มสถานที่ในการเก็บสมุนไพรด้วย ส่วนการใช้ในรูปแบบของสารสกัดบริสุทธิ์ (purified) นั้น พบว่า ค่าใช้จ่ายในการสกัดแพงมาก และการสกัดสารบริสุทธิ์ออกมาเพียงตัวใดตัวหนึ่งอาจไม่สามารถออกฤทธิ์ได้เต็มที่ เพราะสารออกฤทธิ์ที่อยู่ในสมุนไพรมีหลายตัวโดยแต่ละชนิดจะเสริมฤทธิ์กัน (synergistic effect) ปัจจุบันพบว่า สารสกัดในรูปแบบสกัดหยาบ (crude extract) จะมีผลดีกว่าในรูปแบบสารสกัดบริสุทธิ์ และค่าใช้จ่ายในการสกัดถูกลงด้วยสมุนไพรที่นิยมเสริมในอาหารสัตว์ เช่น ฟ้าทะลายโจร ขมิ้นชัน ไพล มะระจีนก และใบฝรั่ง เป็นต้น ฝรั่งเป็นพืชสมุนไพรซึ่งทุกส่วนล้วนมีสรรพคุณทางเภสัชวิทยา ใช้ในการรักษาโรคต่างๆ คือ เปลือกต้น เปลือกกราก ใช้ระงับอาการปวดฟัน ราก แก้น้ำเหลืองเสีย ผล รักษาอาการท้องเดิน โรคบิด ท้องเสีย เลือดออกตามไรฟัน บำรุงผิวพรรณ ผื่นคัน และระงับกลิ่นปาก (เสงี่ยม, 2522; เพียว, 2537) ส่วนของใบฝรั่งประกอบด้วยสารสำคัญหลายชนิด ได้แก่ β -selinene, β -caryophyllene, caryophyllene oxide, squalene, guaijavarin, isoquercetin, hyperin, quercitrin, quercetin, β -sitosterol, uvaol และ limonene (สถาบันวิจัยสมุนไพร, 2544) ในใบแก่ พบทั้งแทนนินประเภท catechol และ pyrogallol อยู่รวมกัน 8-15 เปอร์เซ็นต์ โดยมีฤทธิ์ลดอาการระคายเคืองของลำไส้ ลดการสูญเสียเลือดออกจากร่างกาย และฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคท้องเสีย ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Salmonella typhosa* และ *Shigella antidyenteriae* ยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ *Candida albicans* เชื้อรา *Aspergillus niger* และต่อต้านเชื้อไวรัส (antiviral)

โดยการยับยั้งผ่านการทำงานของเอนไซม์ reverse transcriptase ในเซลล์เพาะเลี้ยง (Dhawan *et al.*, 1977; Verpoorte and Dishal, 1987; Caceres *et al.*, 1990; Suthienkul *et al.*, 1993; Rabe and van Staden, 1997) สารเคอร์ซีติน (quercetin) มี 0.36 เปอร์เซ็นต์ โดยมีฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ ผ่านการยับยั้งการหลั่ง acetylcholine จึงทำให้หยุดถ่าย และมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย พบน้ำมันหอมระเหยชนิด nerolidol และ limonene ซึ่งมีฤทธิ์เป็นยาดับกลิ่นปาก และยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในปาก ได้แก่ *Neisseria* sp., *Staphylococcus* sp., *Vibrio* sp. และ *Bacillus* sp. (เพียว, 2537) ลดระดับคอเลสเตอรอล ความดันโลหิต และไตรกลีเซอไรด์ในซีรัม (Singh *et al.*, 1993) เป็นสารต้านการกลายพันธุ์ (Grover and Bala, 1993) และสารต้านอนุมูลอิสระ (Stafford, 1990; Okuda *et al.*, 1995; Haslam, 1998; Hemingway *et al.*, 1999)

จากการที่ส่วนของใบฝรั่งประกอบด้วยสารสำคัญหลายชนิดดังกล่าวข้างต้น และเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร การศึกษาครั้งนี้จึงเป็นการประยุกต์ใช้ผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งนำมาใช้เสริมลงในอาหารไก่ไข่สำเร็จรูปทางการค้า ต่อคุณลักษณะทางการให้ผลผลิตไข่ คุณภาพไข่ ระดับคอเลสเตอรอลในไข่แดงและพลาสมา ไตรกลีเซอไรด์ อัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮโมโกลินต่อลิมโฟไซต์ ค่าความสามารถรวมของสารต้านอนุมูลอิสระในการรีดิวซ์เหล็กเฟอริก และระดับเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน เพื่อเป็นแนวทางหนึ่งในการทดแทนการใช้ยา/สารปฏิชีวนะ และสารสังเคราะห์ในอุตสาหกรรมเลี้ยงไก่ไข่ส่งผลให้มีความปลอดภัยต่อการผลิตสัตว์ และได้อาหารที่ปลอดภัย (food safety) นอกจากนี้ การใช้สมุนไพรในรูปของผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบยังสามารถควบคุมคุณภาพของวัตถุดิบ หรือผลิตภัณฑ์ของใบฝรั่งได้ อันจะเป็นประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมเลี้ยงสัตว์ของประเทศ และส่งผลในการเพิ่มศักยภาพในการแข่งขันของประเทศในตลาดโลกอย่างต่อเนื่องและยั่งยืน

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาผลของการเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งในอาหารต่อสมรรถภาพการให้ผลผลิต และคุณภาพไข่ของไก่ไข่ที่เลี้ยงภายใต้สภาพความหนาแน่นมากกว่าปกติ
2. ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากใบฝรั่งในการต้านอนุมูลอิสระและการลดการเกิดกระบวนการลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน
3. ศึกษาระดับที่เหมาะสมในการประยุกต์ใช้เพื่อลดผลกระทบจากความเครียดจากภาวะออกซิเดชันภายใต้ความหนาแน่นมากกว่าปกติ เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่อไป
4. แนวทางการใช้ผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งในการเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์จากสัตว์ เช่น การผลิตไข่คอเลสเตอรอลต่ำ

การตรวจเอกสาร

ฝรั่ง (*Psidium guajava* Linn.)

ฝรั่งเป็นพืชที่นิยมปลูกทั่วไปในประเทศไทย อยู่ในวงศ์ Myrtaceae สกุล *Psidium* ชื่อสามัญคือ guava และ common guava (จิตพงษ์, 2544) ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Psidium guajava* Linn. พืชในวงศ์นี้มีมากกว่า 80 สกุล 3,000 ชนิด (Cobley, 1956; Nakasone and Paull, 1998) และมีความหลากหลายของลักษณะต่าง ๆ ภายในชนิดเดียวกัน (Hilrano and Nakasone, 1969) ฝรั่งมีชื่อเรียกแตกต่างกันไปตามภูมิภาค ได้แก่ มะนัง มะก้วยกา มะก้วย มะแก้ว มะปุ่น (ภาคเหนือ) ย่าหุมะหุมะ ยามู ชมพู จุ่มโป ชมพู บักเกี้ย (ภาคใต้) บักสิดา (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ) และชื่ออื่นๆ ได้แก่ มะกา มะจีน ชะมูนี เตปinya และยะริง เป็นต้น (วันดี, 2539) เดิมมีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนและเขตอบอุ่นของทวีปแอฟริกาได้ตั้งแต่ประเทศเม็กซิโกไปจนถึงประเทศเปรู และแพร่กระจายไปยังประเทศเขตร้อนทั่วโลก (Menzel, 1985) ในประเทศไทยฝรั่งถูกนำเข้ามาปลูกครั้งแรกในปี พ.ศ. 2230 ซึ่งสามารถปลูกได้ดีในเขตร้อน ถึงเขตร้อนหรือประเทศที่มีอากาศค่อนข้างอบอุ่น แต่ไม่สามารถทนต่อสภาพอากาศเย็นจัดได้ ปลูกได้ตั้งแต่ระดับน้ำทะเลจนถึงพื้นที่ที่มีความสูงเหนือระดับน้ำทะเล 1,500 เมตร เจริญเติบโตได้ดีในดินเกือบทุกชนิด ความเป็นกรด-ด่าง 4.5-8.2 ถ้าฝรั่งได้รับน้ำอย่างสม่ำเสมอจะช่วยให้ฝรั่งเจริญเติบโตดี และให้ผลผลิตตลอดปี (ไพโรจน์, 2540; Nakasone and Paull, 1998) ขยายพันธุ์ด้วยวิธีเพาะเมล็ด ทาบกิ่ง และตอนกิ่ง ส่วนใหญ่นิยมขยายพันธุ์ด้วยวิธีตอนกิ่งและทาบกิ่ง (สถาบันวิจัยสมุนไพรร, 2544; Nigel, 1992) การปลูกฝรั่งเป็นการค้าต้องปลูกในแหล่งที่มีอุณหภูมิสูงกว่า 16 องศาเซลเซียส อุณหภูมิในฤดูหนาวไม่ต่ำกว่า 17 องศาเซลเซียส (Chandler, 1958) การผลิตฝรั่งในมลรัฐฮาวาย พบว่า ดอกที่ออกในเดือนที่อุณหภูมิต่ำกว่า 7 องศาเซลเซียส จะทำให้ดอกเป็นหมันหลังการผสมเกสร ทำให้ผลผลิตลดลงในฤดูร้อน (Shigeura and Bullock, 1983) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการปลูก คือ 23-27 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 23 หรือสูงกว่า 27 องศาเซลเซียส ในช่วงออกดอกจะทำให้ติดผลลดลง (Nakasone and Paull, 1998)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ฝรั่งเป็นไม้ยืนต้น ทรงสูงประมาณ 3-10 เมตร (จารุพันธ์, 2532) ฝรั่งที่โตตามธรรมชาติจะแตกกิ่งก้านสาขามาก กิ่งที่ยังอ่อนอยู่จะมีลักษณะเป็นเหลี่ยม มีส่วนที่ยื่นออกมาคล้ายปีกอยู่

รอบทั้ง 4 ด้าน และมีขนละเอียดปกคลุม ส่วนกิ่งก้านมีลักษณะกลม (Nigel, 1992) ใบเป็นแบบใบคู่ จัดเรียงตัวแบบตรงกันข้าม รูปร่างใบเป็นแบบ elliptic จนถึงรูปร่างแบบ oblong กว้าง 3-7 เซนติเมตร และยาว 5-15 เซนติเมตร ดอกเป็นดอกสมบูรณ์เพศ คือ มีทั้งละอองเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียอยู่ภายในดอกเดียวกัน โดยมักเกิดที่ตำแหน่งตาข้าง ซึ่งอาจเป็นดอกเดี่ยวหรือดอกช่อก็ได้ (วันดี, 2539; วุฒิ, 2540; นันทวัน, 2542) รังไข่อยู่ใต้ฐานรองดอก มีเมล็ดมาก รูปร่างผลมีทั้งทรงกลม (spherical) ทรงคล้ายลูกแพร์ (pyriform; รุ่งระวี และคณะ, 2542) สีเนื้อ ผลแตกต่างกันไปตามลักษณะประจำพันธุ์อาจเป็นสีเหลือง สีขาว สีชมพู หรือสีแดง ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ฝรั่ง
ที่มา: วุฒิ (2540)

การจำแนกพันธุ์ฝรั่ง

สรัสวดี (2532) จำแนกพันธุ์ฝรั่งตามแหล่งกำเนิดไว้ดังนี้

1. ฝรั่งพันธุ์พื้นเมือง หรือฝรั่งจีน เป็นพันธุ์ดั้งเดิมของไทยขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด มีผลขนาดเล็ก ทรงกลมและรูปไข่ เนื้อผลสีชมพู รสหวานอมเปรี้ยว มีเมล็ดมาก ลำต้นแข็งแรงทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดี
2. ฝรั่งพันธุ์จีน เป็นฝรั่งที่ปลูกมานานกว่า 80 ปี มีการขยายพันธุ์ด้วยกิ่งตอน ให้ผลเมื่ออายุปีครึ่ง ต้นสูงปานกลาง ลำต้นสีน้ำตาลปนแดง ใบแคบเรียวยาวแหลม ติดผลเดี่ยวแต่ดก น้ำหนัก 350-450 กรัม ลักษณะผลมี 2 ชนิด ชนิดแรกคล้ายผลสาถ์ เนื้อหนา มีเมล็ดและเนื้อหุ้ม

เมล็ดจำนวนมาก รสหวานกว่าพันธุ์อื่นๆ อีกชนิดหนึ่ง คือ ผลป้อม ไม่มีจุด เนื้อบาง มีเมล็ดมาก รสหวานเล็กน้อย ฟรุ้งทั้งสองชนิดมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5-7 เซนติเมตร ผิวเรียบเป็นมัน เมื่อแก่จัดมีสีเขียวอ่อน รสหวานกรอบ เมื่อสุกมีสีเหลืองอ่อนกลิ่นหอม

3. ฟรุ้งพันธุ์อินเดีย มีถิ่นกำเนิดในประเทศอินเดีย แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

3.1 ฟรุ้งพันธุ์ไม่มีเมล็ด หรือฟรุ้งพันธุ์อู่อั่ว มีผลกลมขนาดกลางหรือขนาดใหญ่ ผิวค่อนข้างขรุขระเนื้อหนา รสหวาน ไม่มีเมล็ด ลำต้นไม่สูงมากนัก ให้ผลไม่ดก

3.2 ฟรุ้งพันธุ์มีเมล็ด ได้แก่ ฟรุ้งพันธุ์อ้อมอินเดีย เป็นฟรุ้งพันธุ์เบา ใบเล็กแคบสั้น ปลายแหลม ผลดกคล้ายมะกอกฟรุ้ง มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5-6 เซนติเมตร ผิวขรุขระเล็กน้อย เมื่อแก่ผลมีสีเขียวอ่อน เมื่อสุกมีผลสีเหลืองอ่อน เนื้อหนาปานกลาง รสหวาน และมีเมล็ดน้อย

4. ฟรุ้งพันธุ์เวียดนาม มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศเวียดนาม ผลมีขนาดใหญ่ ประมาณ 700-1,200 กรัม ผิวขรุขระ เนื้อหนารอบ มีเมล็ดจำนวนมาก ให้ผลดก และมีทรงต้นที่แผ่กว้างมาก

ประโยชน์ของฟรุ้ง

1. คุณค่าทางโภชนาการของฟรุ้ง

ฟรุ้งเป็นไม้ผลประกอบด้วยวิตามินและแร่ธาตุที่สำคัญหลายชนิด โดยเฉพาะวิตามินซี และวิตามินเอซึ่งมีมากกว่ามะนาวถึง 4 เท่า โดยมีปริมาณมากที่สุดเมื่อผลแก่เต็มที่ แต่ถ้าทิ้งไว้ให้สุก ปริมาณวิตามินซีจะลดลง และยังมีเพคติน (pectin) กรดซิตริก (citric acid) และน้ำตาล rhamnose, xylose, ribose, arabinose, glucose และ sucrose พบในปริมาณสูง ส่วนกรดทาร์ทาริก (tartaric acid) และกรดมาลิก (malic acid) ซึ่งพบในปริมาณเพียงเล็กน้อย (เต็ม, 2544) นอกจากนี้ ยังประกอบด้วยแร่ธาตุที่สำคัญ ได้แก่ แคลเซียม เหล็ก และฟอสฟอรัส (สร้อย, 2532)

2. ประโยชน์ทางยาของฝรั่ง

ถนอมจิต (2545) รายงานว่า ทุกส่วนของฝรั่งล้วนมีสรรพคุณทางเภสัชวิทยาโดยใช้ในการรักษาโรคต่างๆ เช่น ท้องเสีย ท้องเดิน ท้องร่วง และบิด เป็นต้น ส่วนที่นำมาเป็นยา คือ ใบสด ผลอ่อน เปลือกลำต้น รวมทั้งส่วนของรากด้วย โดย เสงี่ยม (2522) ได้สรุปสรรพคุณทางยาของฝรั่งในตำรายาไทยไว้ดังนี้

2.1 ใบ มีสรรพคุณแก้ท้องเสีย บิด ดับกลิ่นปาก คุดหนอง ฝี สมานแผล รักษาเหงือก บวม รักษาแผลเรื้อรัง รักษาโรคผิวหนัง โรคกระเพาะ และโรคลำไส้อักเสบ สารเคมีที่พบคือ chlorophyll A, chlorophyll B, triterpene, quercetin, quajaverin, psidiolic acid, eugenol, nerolidiol, beta-selinene, caryophyllene และ tannin ประเภท catechin tannin และ hydrolysable tannin รวมกันอยู่ประมาณ 8-15 เปอร์เซ็นต์ (Ayensu and Edward, 1981; สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2541; เบญญาภา และคณะ, 2550) ส่วนสารเคอร์ซีติน (quercetin) มีประมาณ 0.36 เปอร์เซ็นต์ (นันทวัน, 2542) นอกจากนี้ ยังพบน้ำมันหอมระเหยชนิด nerolidol และ limonene ซึ่งเมื่อนำมาแยกจะพบสาร aromadendrene และ beta-selinene ส่วนน้ำมันไม่หอมระเหยมี 6 เปอร์เซ็นต์ (เพียว, 2537) นอกจากนี้ สรัสวดี (2532) รายงานว่า เนื่องจากใบมีสารแทนนินอยู่มากจึงสามารถนำมาทำเป็นยาได้อย่างดี ดังนี้

2.1.1 โรคท้องร่วง ท้องเดิน ใช้ใบทั้งอ่อนถึงแก่ นำมาต้มกับน้ำรับประทาน หรือเคี้ยวใบสดแล้วดื่มน้ำตาม

2.1.2 ยาห้ามเลือด นำส่วนของใบมาตำให้ละเอียด พอกแผลบริเวณเลือดออก จะทำให้เลือดหยุดไหลได้

2.1.3 ดับกลิ่นปาก นำใบฝรั่งสดเคี้ยวให้ละเอียดแล้วบ้วนทิ้ง สารแทนนินและน้ำมันหอมระเหยที่อยู่ในใบฝรั่งจะช่วยดับกลิ่น บำรุงรักษาเหงือกและฟันได้เป็นอย่างดี

2.1.4 โรคผิวหนังอักเสบ มีผื่นแดง ใช้ใบสดต้มน้ำ หรือน้ำที่ได้จากการต้มมาล้างผิวหนังบริเวณที่เกิดแผล ซึ่งสารสกัดจากใบฝรั่งสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดแผลและหนองได้เป็นอย่างดี

2.1.5 ระวังกลิ่นตัว ใช้ใบสดขยี้ที่รักแร้ ทิ้งไว้สักครู่แล้วล้างออก

2.2 ราก มีสรรพคุณแก้หน้าเหลืองเสีย และเลือดกำเดาไหล สารเคมีที่พบ คือ arjunclic acid และ tannin ทั้งประเภท condensed tannin และ hydrolysable tannin

2.3 เปลือกและแก่น มีสรรพคุณสมานแผล แก้ท้องร่วง แก้เหงือกบวม และบิดมูกเลือด สารเคมีที่พบคือ leucocyanidin, luteic acid, tannin, casuarinin, oxalic acid, alcohols, pigments และ amritoside

2.4 ผลดิบ มีสรรพคุณแก้ท้องเสีย ดูกลิ้น ดับกลิ่นปาก บิดมูกเลือด เหงือกบวม และฤทธิ์สมานแผล สารเคมีที่พบ คือ beta-sitosterol, quercetin, quaijavolic, leucocyanidin, valine acid, asparagic acid, glutamic acid, cystine และ arabinan (ศูนย์ข้อมูลสมุนไพร, 2530)

รุ่งระวี และคณะ (2542) รายงานว่า อาการท้องเสียทำให้เกิดการระคายเคืองของเนื้อเยื่อผิวหนังระเพาะอาหารและลำไส้ ทำให้เกิดการบีบตัวมากผิดปกติ จึงเกิดการถ่ายอุจจาระบ่อยๆ โดยสารออกฤทธิ์แก้อาการท้องเสียที่สำคัญคือ แทนนิน เมื่อแทนนินสัมผัสกับผนังลำไส้ใหญ่จะรวมกับโปรตีนที่เนื้อเยื่อผิวและเปลี่ยนไปเป็นสารที่สามารถเคลือบเนื้อเยื่อไว้ ทำให้สามารถลดอาการระคายเคืองของลำไส้ จึงทำให้หยุดถ่ายอุจจาระ และยังสามารถทำลายโปรตีนของเชื้อโรค ทำให้เชื้อโรคตาย จากการศึกษาทางคลินิก ปัญจรงค์ และ ชัยโย (2530) ซึ่งทดลองใช้ใบฝรั่งอบแห้งบดเป็นผงบรรจุในแคปซูล รักษาผู้ป่วยที่มีอาการอุจจาระร่วง โดยให้รับประทานครั้งละ 500 มิลลิกรัม ทุกๆ 3 ชั่วโมง เป็นเวลา 3 วัน เปรียบเทียบกับการใช้ยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน พบว่า สามารถรักษาโรคอุจจาระร่วงในคนได้ดีกว่ายาเตตราซัยคลิน และสามารถลดระยะเวลาของการถ่ายเหลวได้มากกว่าการใช้ยาเตตราซัยคลิน โดยไม่พบอาการข้างเคียง อย่างไรก็ตาม สมศักดิ์ (2539) รายงานว่า หากมีบาดแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้ จะทำให้แทนนินถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายในปริมาณมากและส่งผลเสียต่อดับ นอกจากนี้ Vohra *et al.* (1966) พบว่า แทนนินในใบฝรั่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* และ *Alcaligene faecalis* ที่เป็นสาเหตุทำให้อาหารเป็นพิษได้

สารประกอบในฝรั่ง

1. สารประกอบจากผลฝรั่ง

terpenic hydrocarbons, 3-hydroxy-2-butanone, 3-penten-2-ol, 2-butenyl acetate, acetic acid, 3-hydroxy-2-butanone, 3-methyl-1-butanone, 2,3-butanediol, 3-methylbutanoic acid, (Z)-3-hexen-1-ol, 6-methyl-hepten-2-one, limonene, octanol, ethyl octanoate, 3-phenylpropanol, cinnamyl alcohol, 1-*O-trans*-cinnamoyl- α -L-arabinofuranosyl, 1-*O-trans*-cinnamoyl- β -D-glucopyranose α -carotene, γ -carotene, lycopene, zeinoxanthin, 5,6,5',6'-diepoxy- β -carotene and 5,8-epoxy-3,3', 4-trihydroxy- β -carotene, β -carotene, cis- γ -carotene, 5,8-epoxy-zeinoxanthin, vitamin A, vitamin C, (*E*)-cinnamoic acid, hexenoic acid และ isostictinin (Okuda *et al.*, 1980; Idstein *et al.*, 1985; Padula and Rodriguez-Amaya, 1986; Latza *et al.*, 1996; Jordán *et al.*, 2003) carotenoid ได้แก่ (all-*E*)-, (9*Z*)-, (13*Z*)- และ (15*Z*)-beta-carotene, (all-*E*)-gamma-carotene, (all-*E*), -(9*Z*)-, (13*Z*)- และ (15*Z*)-lycopene, (all-*E*,3*R*)-beta-cryptoxanthin, (all-*E*,3*R*)-rubixanthin, (all-*E*-3*S*,5*R*,8*S*)-cryptoflavin, (all-*E*,3*R*,3',6'*R*)-lutein (all-*E*,3*S*,5*R*,6*R*,3'*S*,5'*R*,8'*S*)-neochrome และ pectinmethylesterase (Mercadante *et al.*, 1999; Maria *et al.*, 2005)

2. สารประกอบจากใบฝรั่ง

พบสารกลุ่ม sesquiterpene hydrocarbon จากน้ำมันหอมระเหย (essential oil) ในส่วนของใบฝรั่ง (Smith and Siwatibau, 1975) guajavolide (2 α ,3 β ,6 β -23-tetrahydroxyurs-12-en-28,20- β -olide), guavenoic acid (2 α ,3 β ,6 β -23-tetrahydroxyurs-12,20(30)-dien-28-oic acid), oleanolic acid, jacoumaric acid, 20 β -acetox-2 α ,3 β -dihydroxyurs-12-en-28-oic acid, 2 α ,3 β -dihydroxy-24-*p-Z*-coumaroyloxyurs-12-en-28-oic acid, 2 α -hydroxy ursolic acid, isonericoumaric acid, asiatic acid, ilelatifol D and β -sitosterol-3-*O*- α -L-arabopyranoside, flavonoid, β -sitosterol, guajavanoic acid, obtusin, goreishic acid, pentacyclic triterpenoid guajanoic acid, ursolic acid, oleanolic acid, uvaol และ 1(3- β -*p-E*-coumaroyloxy-2- α -methoxyurs-12-en-28-oic-acid; Begum *et al.*, 2002; Hidetoshi and Gen-ichi, 2002; Begum *et al.*, 2004) การแยกน้ำมันหอมระเหยออกจากใบฝรั่ง พบ caryophyllene, copaene, [1*aR*-

(1a α ,4a α ,7a β ,7b α)]-decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-1H-cycloprop[e]azulene และ สาร eucalyptol พบ 18.81 11.80 10.27 7.36% ตามลำดับ (Li *et al.*, 1999)

3. สารประกอบในเมล็ดฝรั่ง

สารสกัดชั้นคลอโรฟอร์ม-เมทานอล (chloroform-metanol) ของเมล็ดฝรั่งมีไขมันอยู่ 9.1% และมีโปรตีนอยู่ 9.73% ของน้ำหนักแห้ง (Habib, 1986)

ฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

1. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

สารสกัดส่วนเนื้อ (pulp) และเปลือกฝรั่ง (peel) มีส่วนของเชื้อไขอยู่ 48.55-49.42% และมีสารประกอบโพลีฟีนอล (polyphenol) 2.62-7.79 เปอร์เซ็นต์ สารโพลีฟีนอลในส่วนของเปลือกฝรั่งแห้งน้ำหนัก 1 กรัม มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วย free radical DPPH scavenging, ferric reducing antioxidant power assay (FRAP) และ inhibitory of copper-catalyzed *in vitro* human low-density lipoprotein (LDL) oxidation โดยผลที่ได้มีค่าเท่ากับ Trolox 43, 116 และ 176 มิลลิกรัมตามลำดับ (Jimenez-Escrig *et al.*, 2001) ในการศึกษา total antioxidant และ lipid (total cholesterol, triglyceride, LDL-cholesterol และ HDL cholesterol) ของผู้ชายที่รับประทานฝรั่ง 400 กรัม/วัน โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ baseline phase (1 สัปดาห์) treatment phase (4 สัปดาห์) และ control phase (4 สัปดาห์) แล้ววัดค่า total antioxidant, glucose, lipid profile และ antioxidant enzyme ในเลือด หลังจากการทดลองพบว่า ปริมาณ total antioxidant, total cholesterol, triglyceride และ HDL-cholesterol ของผู้ที่รับประทานฝรั่งมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$; Rahmat *et al.*, 2004) นอกจากนี้ สารสกัดฝรั่งด้วยเอทานอลและน้ำมีค่า total phenolic เท่ากับ 575.3 $\pm$ 15.5 และ 511.6 $\pm$ 6.2 มิลลิกรัม ตามลำดับ (Qian and Nihorimbere, 2004)

2. ฤทธิ์ด้านการอักเสบ

สารสกัดใบฝรั่งด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ด้านการอักเสบและด้านการปวด โดยพบว่า สารสกัดดังกล่าวมีฤทธิ์ยับยั้ง paw oedema ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย carrageenan ในหนูและยับยั้งอาการปวดที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยกรดอะซิติก (acetic acid) ในหนูไมซ์ที่ความเข้มข้น 50-200 มก./กก. นอกจากนี้หลังจากให้สารสกัดทางปากแก่หนู พบว่า สารสกัดขนาด 50-200 มก./กก. มีฤทธิ์ลด transit time ในลำไส้หนูและมีฤทธิ์ป้องกันอาการท้องร่วงในหนูไมซ์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยน้ำมันละหุ่ง รวมทั้งยังออกฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลาง (Olajide *et al.*, 1999)

3. ฤทธิ์ลดอาการท้องร่วง

เมื่อทดลองให้สารสกัดใบฝรั่งในรูปแคปซูลขนาด 500 มิลลิกรัม กับผู้ป่วยโรคท้องร่วงแบบเฉียบพลันจำนวน 50 คน ทุกๆ 8 ชั่วโมง เป็นเวลา 3 วัน พบว่า ผู้ป่วยมีอาการปวดท้องลดลง (Xavier *et al.*, 2002) โดยสารสกัดด้วยน้ำจากใบฝรั่งมีฤทธิ์ด้านอาการท้องร่วงในหนูที่ทำให้ติดเชื้อ enteropathogenic agent (Almeida *et al.*, 1995) และเมื่อทดสอบฤทธิ์ด้านท้องร่วงของสารสกัดด้วยน้ำของใบฝรั่งสดในหนูสายพันธุ์ Sprague-Dawley น้ำหนัก 200-250 กรัม พบว่า สารสกัดขนาด 0.2 มก./กก. สามารถยับยั้งการเคลื่อนตัวของลำไส้เล็กได้ 65% เช่นเดียวกับการใช้มอร์ฟีนซัลเฟต (morphine sulphate) โดยกลไกการออกฤทธิ์เนื่องมาจากการยับยั้งการเพิ่มการคัดหลั่งน้ำ ซึ่งโดยปกติแล้วจะมีการหลั่งน้ำในลำไส้เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยท้องร่วง (Lutterodt, 1992) ส่วนการนำเคอร์ซีติน (quercetin) และเคอร์ซีติน-3-อะราบินโนไซด์ (quercetin-3-arabinoside) ที่สกัดจากใบฝรั่งไปทดสอบกับลำไส้เล็กส่วนไอเลียมในหนูตะเภาที่ถูกกระตุ้นให้หดตัวด้วยกระแสไฟฟ้า พบว่า สารสกัดเริ่ม ออกฤทธิ์ยับยั้งการหลั่งเอซิติลโคลีน (acetylcholine) ที่ความเข้มข้น 1.61 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร คล้ายกับการออกฤทธิ์ของมอร์ฟีน (Lutterodt *et al.*, 1989) ในการศึกษาฤทธิ์ด้านการท้องร่วงในลำไส้เล็กส่วนไอเลียมของหนูตะเภาแบบ *in vitro* พบว่า สารเคอร์ซีตินในใบฝรั่งออกฤทธิ์ยับยั้งการเคลื่อนที่ของลำไส้เล็กและช่วยลดความยืดหยุ่นของ abdominal capillaries ซึ่งเป็นกลไกที่ช่วยลดอาการท้องร่วง (Zhang *et al.*, 2003) นอกจากนี้ สารสกัดด้วยเมทานอลของใบฝรั่งยังออกฤทธิ์ลดปริมาณอุจจาระได้ 38.49% (Lin *et al.*, 2002)

4.ฤทธิ์ด้านเชื้อต่างๆ

สารสกัดจากใบฝรั่งมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย (Holeta *et al.*, 2002) โดยส่วนสารสกัดด้วยเอทานอลของใบฝรั่งมีฤทธิ์ต้านเชื้อ enterobacteria ที่ก่อให้เกิดโรคในคน (Caceres *et al.*, 1993) ได้แก่ *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *S. typhi*, *Shigella dysenteriae* และ *Shigella flexneri* (Caceres *et al.*, 1990) ส่วนสารสกัดด้วยน้ำและเมทานอลของเปลือกต้นฝรั่งมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* โดยมีค่า MIC (minimal inhibitory concentration) สารสกัดด้วยน้ำเท่ากับ 1.69, 6.79, 13.05 และ 13.06 มก./มล. ตามลำดับ และมีค่า MIC ของสารสกัดด้วยเมทานอลเท่ากับ 4.52, 9.03, 18.06 และ 9.03 มก./มล. ตามลำดับ นอกจากนี้ สารสกัดความเข้มข้น 45 มก./มล. ยังมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ที่แยกได้จากท่อปัสสาวะเชื้อ *Proteus vulgaris* ที่แยกได้จากบาดแผล โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางของ inhibition zone มากกว่า 15 มิลลิเมตร (Abdelrahim *et al.*, 2002) และเชื้อ *Entamoeba histolytica* โดยสารสกัดส่วนใบมีค่า MIC เท่ากับ 62.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และสารสกัดส่วนต้นมีค่า MIC น้อยกว่าหรือเท่ากับ 7.81 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (Tona *et al.*, 1998) ส่วนสารสกัดด้วยเอทานอลและน้ำของใบฝรั่งอ่อนมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ที่แยกได้จากเนื้อปลาและเนื้อกุ้ง โดยมีค่า inhibition zone เท่ากับ 13 มิลลิเมตร (Vieira *et al.*, 2001)

เมื่อนำสารสกัดของผลฝรั่งใน 80% เมทานอล และสารสกัดด้วยน้ำมาทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา *Arthrimum sacchari* M001 และ *Chaetomium funicola* M002 โดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางที่เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้ในอาหาร PDA พบว่า ที่สารสกัดด้วย 80% เมทานอลความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ต่อเชื้อ *Arthrimum sacchari* M001 และ *Chaetomium funicola* M002 มีเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญเติบโตเท่ากับ 3.2 และ 5.4 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อ ส่วนสารสกัดด้วยน้ำความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เชื้อ *Arthrimum sacchari* M001 และ *Chaetomium funicola* M002 มีเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญเติบโตเท่ากับ 3.8 และ 6.1 เซนติเมตร ส่วนที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไม่พบการเจริญของเชื้อ *Arthrimum sacchari* M001 แต่เชื้อ *Chaetomium funicola* M002 มีเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญเติบโตเท่ากับ 1.5 เซนติเมตร (Santo-Buelga and Scalbert, 2000) ขณะที่สารสกัดด้วยน้ำจากส่วนลำต้นและเปลือกต้นมีฤทธิ์ antiplasmodial activity โดยใช้เชื้อ *Plasmodium falciparum* D10 พบว่า สารสกัดดังกล่าวมีฤทธิ์ antiplasmodial โดยมีค่า IC_{50} 10-20

ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และการวิเคราะห์ทาง phytochemistry พบสาร anthraquinones, flavonoids, secoirridoids และ terpenoids (Nundkumar and Ojewole, 2002)

การทดสอบสารสกัดด้วยน้ำของใบฝรั่ง พบว่า ระดับความเข้มข้น 8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีฤทธิ์ยับยั้ง simian (SA-11) rotavirus เท่ากับ 93.8% และมีค่า maximum non-toxic concentration (MNTC) 8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (Gonalves *et al.*, 2005) และพบว่า ที่ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยมีค่า inhibition zone เท่ากับ 8-10 มิลลิเมตร โดยสารสกัดความเข้มข้น 8 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อดังกล่าวได้อย่างสมบูรณ์เมื่อทดสอบแบบ turbidity (Gnan and Demello, 1999) จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อดังกล่าว strain ATCC 25923 ของสารสกัดด้วยน้ำจากใบฝรั่ง พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 250 500 และ 750 $\mu\text{g}/\text{disc}$ ให้ค่า inhibition zone เท่ากับ 11 13 และ 14 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดด้วยเมทานอลของใบฝรั่งที่ความเข้มข้น 500 750 และ 1,000 $\mu\text{g}/\text{disc}$ ให้ค่า inhibition zone เท่ากับ 9 10 และ 11 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์มของใบฝรั่งความเข้มข้น 3,000 4,000 และ 5,000 $\mu\text{g}/\text{disc}$ ให้ค่า inhibition zone เท่ากับ 9 10 และ 12 มิลลิเมตร (Jaiari *et al.*, 1999) นอกจากนี้ ส่วนของสารสกัดด้วยเมทานอลของใบฝรั่งยังมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Entamoeba histolytica* โดยมีค่า MIC น้อยกว่า 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ออกฤทธิ์เช่นเดียวกับสาร polyphenolic (Tona *et al.*, 2000) เมื่อนำสารสกัดด้วยเมทานอลของใบฝรั่งมาทดสอบการต้านเชื้อด้วยวิธี paper disc agar diffusion method พบว่า สารสกัดดังกล่าวสามารถต้านเชื้อ *E. coli* O157:H7 ได้ (Varavutthikunchai *et al.*, 2004) และเมื่อนำสารสกัดใบฝรั่งไปทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อด้วยวิธี agar diffusion และ dilution method สามารถหาสัดส่วน inhibition zone ของสารสกัดต่อ inhibition zone ของ neomycin ในเชื้อ *S. aureus*, *S. epidermis*, *B. subtilis*, *Klebsiella pneumoniae* และ *E. coli* เท่ากับ 1.20 0.45 0.28 0 และ 0 ตามลำดับ (Rabe and van Staden, 1997)

สาร morin-3-O- α -L-lyxopyranoside และ morin-3-O- α -L-arabopyranoside จากใบฝรั่ง ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *S. enteritidis* และที่ระดับความเข้มข้น 250 และ 300 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ได้ (Hidetoshi and Gen-ichi, 2002)

5. ฤทธิ์ลดอาการหดร่ง

สาร asiatic acid จากใบฝรั่งขนาด 10-500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ช่วยลดอาการหดร่งของลำไส้ส่วนเจจูนัม (jejunum) ที่แยกได้จากกระต่าย (Begum *et al.*, 2002) ขณะที่สารเคอร์ซีตินที่สกัดจากใบฝรั่งมีฤทธิ์ยับยั้งการหดตัวของลำไส้เล็กที่แยกออกมาจากหนูตะเภา โดยกลไกการหดตัวขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของแคลเซียม (Morales and Lozoya, 1994) และสารสกัดใบฝรั่งที่ระดับความเข้มข้น 80 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ออกฤทธิ์ยับยั้งอะเซทิลโคลีน (acetylcholine) และโพแทสเซียมคลอไรด์ (potassium chloride) ในลำไส้ใหญ่ของหนูตะเภา (Tona *et al.*, 2000) ซึ่งสารเคอร์ซีตินจะจากใบฝรั่งจะช่วยลดการปลดปล่อยอะเซทิลโคลีน (Re *et al.*, 1999)

6. ฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือด

สารสกัดจากใบฝรั่งมีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดหนู โดยออกฤทธิ์ผ่าน protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) และมีฤทธิ์ต้านการเกิดโรคเบาหวานชนิดที่ 2 (antidiabetic type 2) โดยการลดจำนวนหยดไขมันในตับหนูที่รักษาด้วย butanol-solution fraction (Oh *et al.*, 2005) โดยเมื่อให้น้ำฝรั่งขนาด 1 กรัม/กิโลกรัม แก่หนูไม่ซ้ ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดลงได้ชั่วคราว และ น้ำฝรั่งสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดผู้ป่วยเบาหวานและอาสาสมัครที่มีสุขภาพดีได้ (Cheng and Yang, 1983) นอกจากนี้ การนำสารสกัดใบฝรั่งด้วยน้ำมาทดสอบการลดระดับน้ำตาลในหนูอะโลแซน (alloxan) ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดเบาหวานโดยให้ทางปากทั้งการทดสอบแบบเฉียบพลันและกึ่งเฉียบพลัน พบว่า สารสกัดขนาด 250 มิลลิกรัม/กิโลกรัมสามารถลดระดับน้ำตาลได้อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$; Mukhtar *et al.*, 2004)

7. ฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์

สารสกัดด้วยน้ำของฝรั่ง พบว่า มีฤทธิ์ยับยั้งการกลายพันธุ์ในเชื้อ *Salmonella typhimurium* ที่ถูกทำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยวิธี direct-acting mutagen โดยใช้ 4-nitro-O-phenylenediamine, sodium azide และ S9-dependent mutagen (2-aminofluorene) และสารสกัดยังคงออกฤทธิ์ในการยับยั้งการกลายพันธุ์แม้จะผ่านการขั้นตอนการนั่งเป็นเวลา 15 นาที (Grover and Bala, 1993)

8.ฤทธิ์ต่อพฤติกรรมกรรมการเคลื่อนไหว

เมื่อนำสารสกัดส่วน non-polar ที่สกัดได้จากด้วยเมทานอลของใบฝรั่งแห้งมาทดสอบให้กับหนูไม่ซ้ทางช่องท้อง พบว่า สารสกัดขนาด 3.3 และ 6.6 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สามารถยับยั้ง exploratory activity ได้ 90% โดยมี onset time 6-8 นาที และยังยับยั้งพฤติกรรมกรรมการเคลื่อนไหวแบบ spontaneous locomotor activity ได้ (Lutterodt and Maleque, 1988)

9.ฤทธิ์ต้านการไอ

การให้สารสกัดด้วยน้ำของใบฝรั่งที่ความเข้มข้น 2 และ 5 กรัม/กิโลกรัม ทางปากแก่หนูและหนูตะเภาที่ได้รับ capsaicin aerosol สามารถช่วยลดความถี่ของการไอได้ 35 และ 54 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ภายในเวลา 10 นาที หลังจากการให้สารสกัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) แต่ผลที่ได้้น้อยกว่าการให้ dextromethorphan 3 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ซึ่งสามารถลดความถี่ของการไอได้ถึง 78% (Jaiari *et al.*, 1999)

10.ฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลาง

สารสกัดด้วยเฮกเซน เอทิลอะซิเตท และเมทานอลที่ความเข้มข้น 20 100 500 และ 1,250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สามารถออกฤทธิ์ต้านอาการเจ็บปวดที่เกิดจากสารเคมีและอุณหภูมิโดยด้านการเจ็บปวดแบบ dose-dependent (Shaheen *et al.*, 2000)

สารออกฤทธิ์สำคัญที่พบในใบฝรั่ง

1. แทนนิน (tannin)

แทนนินมีชื่อสามัญ คือ กรดแทนนิก (tannic acid) เป็นสารประกอบเชิงซ้อนในกลุ่มของสารประกอบโพลีฟีนอลิก (polyphenolic compound) มีโมเลกุลขนาดใหญ่ มีโครงสร้างซับซ้อนประกอบด้วยวงแหวนหลายโมเลกุล น้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 500-3,000 แยกให้บริสุทธิ์ได้ยาก เนื่องจากไม่ตกผลึก (Bate-Smith, 1977; Haslam, 1986) มีความสามารถในการจับกับโปรตีนและสาร biopolymer เช่น เซลล์โลสและเพคติน สามารถเปลี่ยนรูปเป็นสารประกอบเชิงซ้อน

ระหว่างแทนนินและโปรตีน เมื่อละลายน้ำจะอยู่ในรูปของคอลลอยด์ (colloid) มีรสฝาด ส่วนใหญ่มักพบในรูปไกลโคไซด์ (glycoside; Haslam, 1989) พบทั่วไปในพืชเกือบทุกชนิด โดยพบมากที่ออร์แกนเนลล์ต่างๆ ของเซลล์พืช หรือในผนังเซลล์ชั้นปฐมภูมิและชั้นทุติยภูมิ รวมทั้งเนื้อไม้ เพื่อป้องกันผนังเซลล์และออร์แกนเนลล์ของพืชจากการทำลายของจุลินทรีย์ ชะลอการสลายซากของใบไม้ที่หล่นบนพื้นดินไม่ให้มีการเน่าเปื่อยเพื่อรักษาแร่ธาตุที่สำคัญในดินไว้ (Zucker, 1983) และสามารถจับกับสารตั้งต้นที่เป็นโพลีเมอร์ริก เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ที่อาจมีผลต่อการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีนโดยไปลดกิจกรรมของเอนไซม์ทำให้เชื้อหุ้มเซลล์ทำงานผิดปกติ และเกิดการสูญเสียของสารตั้งต้นของอูออน (Haslam, 1993) นอกจากนี้ยังถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรม การผลิตพลาสติก อุตสาหกรรมอาหารโดยใช้เป็นสารเสริมรสชาติอาหาร เช่น การทำเบียร์ ไวน์ และสาเก โดยไม่มีผลต่อกลิ่น และรสของผลิตภัณฑ์ หากนำมาเคลือบอาหารประเภทเนื้อสัตว์โดยผสมกับเจลาตินจะช่วยให้อายุการเก็บรักษานานขึ้น การย้อมสี เครื่องสำอาง เป็นส่วนผสมของยา เช่น ยาฆ่าเชื้อ แก้ท้องร่วง และยาแก้โรคผิวหนัง นอกจากนี้ ยังยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคใบเหี่ยวใบมะเขือเทศ (สมเดช, 2537) โดย Feeny and Bostock (1968) ได้แบ่งประเภทของแทนนินดังนี้

1.1 ไฮโดรไลซ์เซเบิลแทนนิน (hydrolysable tannin) หรือแกลโลแทนนิน (gallol tannin) เป็นอนุพันธ์ของกรดแกลลิก (gallic acid) มีขนาดโมเลกุลเล็ก น้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 1,000-1,500 ประกอบด้วยกรดแกลลิก และกรดเอลลาจิก (ellagic acid) 9 หน่วย ต่อกับน้ำตาลกลูโคส 1 หน่วย ด้วยพันธะเอสเทอร์ มักพบในใบของพืช สามารถสลายตัวด้วยกรด-ด่าง หรือเอนไซม์ เช่น เอนไซม์แทนเนส (tannase; Feeny and Bostock, 1968) โดยมีคุณสมบัติ ยับยั้งการกลายพันธุ์ การเกิดมะเร็ง ปฏิกริยาการรวมตัวกับออกซิเจน ลดคอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ในซีรัม และการสร้างไขมันโดยฮอร์โมนอินซูลิน (Ong *et al.*, 1995) ในทางตรงข้ามก็สามารถเกิดพิษเมื่อใช้ยา ส่วนทวารที่มีองค์ประกอบของกรดแทนนิก พบว่า สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดกล้ามเนื้อตายในตับ และเมื่อให้ยาในกระเพาะ จะมีผลทำลายกระเพาะ ตับ และไต (Zhu and Filippich, 1995) สามารถแบ่งประเภทของไฮโดรไลซ์เซเบิลแทนนินไว้ดังนี้

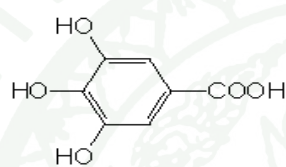
1.1.1 แกลโลแทนนิน (gallotannins) เป็นไฮโดรไลซ์เซเบิลแทนนินที่มีโครงสร้างซับซ้อนน้อยที่สุด ซึ่งเป็นโครงสร้างพื้นฐานของโพลีแกลโลอิลเอสเทอร์ (polygalloyl ester) ของน้ำตาลกลูโคสซึ่งมีลักษณะเป็นเพนตาแกลโลอิลกลูโคส (pentagalloyl glucose; PGG) ซึ่งมีพันธะเอสเทอร์เหมือนกัน 5 พันธะเกาะอยู่กับหมู่เอลิฟาทิกไฮดรอกซิล (aliphatic hydroxyl) ของน้ำตาล

กลูโคส เมื่อเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจะได้ กรดแกลลิก ดังภาพที่ 2 มีคุณสมบัติทางเคมีคือ ความไวในการทำปฏิกิริยากับน้ำ และสามารถตกตะกอนโปรตีนได้

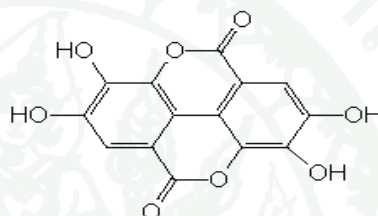
1.1.2 เอลลาจิแทนนิน (ellagitannins) เกิดจากการรวมตัวของออกซิเจนของกลุ่มโพลีแกลลอล (polygalloyl) เมื่อเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจะได้ กรดเอลลาจิก เป็นสารโพลีฟีนอลที่สามารถต่อต้านการแบ่งเซลล์ทำให้วัฏจักรของเซลล์หยุดและเหนี่ยวนำให้เซลล์ตาย เช่น ในเซลล์มะเร็งของคน ได้แก่ Bladder T24, Cervical carcinoma, Leukaemia MOLT-4, Breast MCF7, Leukaemia HL-60 และ Hs5787 (Losso *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2005) ยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ HT 1080 fibrosarcoma ยับยั้งการอักเสบ การกลายพันธุ์ ท้องเสีย และปฏิกิริยาที่เกิดจากไวรัส (Viniès *et al.*, 1999) เนื่องจากคุณสมบัติที่ใช้บำบัดและรักษามะเร็ง ทั้งกรดเอลลาจิแทนนิน และผลผลิตที่เกิดจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส คือ กรดเอลลาจิก จะไม่ถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายแต่จะเคลื่อนที่ไปที่ลำไส้ใหญ่และปล่อยกรดเอลลาจิกที่เมตาบอไลซ์โดยจุลินทรีย์ในร่างกายมนุษย์ (Okuda, 2005) Kinoshita *et al.* (2006) รายงานว่า สารสกัดจากใบ *T. catappa* และ *T. corilagin* ที่มีกรดเอลลาจิแทนนินเป็นองค์ประกอบสามารถป้องกันและต่อต้าน D-galactosamine ที่เหนี่ยวนำให้เกิดความเป็นพิษต่อตับ โดยลดลิพิดเปอร์ออกไซด์ ไนตริกออกไซด์ และป้องกันการตายของเซลล์ สอดคล้องกับ Gao *et al.* (2004) รายงานว่า สารสกัดจากใบของต้น *T. catappa* และ *corilagin* สามารถยับยั้งปฏิกิริยาการรวมตัวกับออกซิเจน และการอักเสบ และจากการศึกษาในหลอดทดลองเกี่ยวกับกรดเอลลาจิกในการป้องกันการทำลายดีเอ็นเอที่ทำให้เกิดโรคเรื้อรังในการเพาะเลี้ยงเซลล์ มีกลไกการทำงาน คือ กรดเอลลาจิกจะยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ เอ็น-อะซิติลทรานสเฟอเรส (N-acetyltransferase) ซึ่งจะนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างดีเอ็นเอของเนื้องอกในกระเพาะปัสสาวะ โดยกรดเอลลาจิกในปริมาณมากสามารถยับยั้งการขยายตัวของเซลล์มะเร็งปากมดลูกและยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งได้ โดยไม่มีผลในการกระตุ้นเซลล์ปกติ (Narayanan *et al.*, 1999; Festa *et al.*, 2001)

1.2 คอนเดนส์แทนนิน (condense tannin) หรือคาทีชินแทนนิน (catechin tannin) มีขนาดโมเลกุลใหญ่ น้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 1,000 ขึ้นไป ดังภาพที่ 3 มักพบในเปลือกและแก่นไม้ มีหน่วยย่อย คือ คาทีชิน (catechin) มีลักษณะเป็นวงแหวนเพนทาไฮดรอกซีฟลาเวน (pentahydroxyflavan) จึงทำให้ไม่สามารถไฮโดรไลซ์ได้ด้วยกรด-ด่าง และเอนไซม์ได้ เนื่องจากไม่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นส่วนประกอบ (Feeny and Bostock, 1968; Okuda *et al.*, 2005) แต่สามารถละลายได้ดีในน้ำร้อน แอลกอฮอล์และอะซิโตน เมื่อต้มกับกรดจะรวมตัวกันเป็นโพลีเมอร์เกิดเป็น

สารประกอบที่ไม่ละลายน้ำสีแดง เรียกว่า tannin-red หรือฟลอบาฟีน (phlobaphene) เมื่อทำปฏิกิริยากับกรดอะซิดิกจะเกิดเป็นสารประกอบโพรแอนโทไซยานิดิน (proanthocyanidins) ซึ่งเป็นโครงสร้างของฟลาโวนอยด์, อีพิคาทีชิน และคาทีชิน (Zucker, 1983) มีความสามารถในการยับยั้งการเกิดโรคภูมิแพ้ (anti-allergy) ความดันโลหิตสูง (antihypertensive)ต่อต้านการเกิดอนุมูลอิสระ ลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจและมะเร็ง ลดการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะต่อต้านเชื้อราและยีสต์ และยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (Bagchi *et al.*, 2000; Santos-Buelga and Scalbert, 2000) อย่างไรก็ตาม คอนเดนซ์แทนนินที่รู้จักในนามโพรแอนโทไซยานิดินถูกนำมาใช้ประโยชน์มากในการผลิตยา เนื่องจากมีสารต้านการเกิดอนุมูลอิสระสูง (Santos-Buelga and Scalbert, 2000)



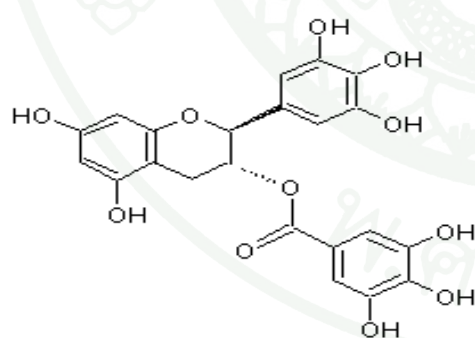
gallic acid



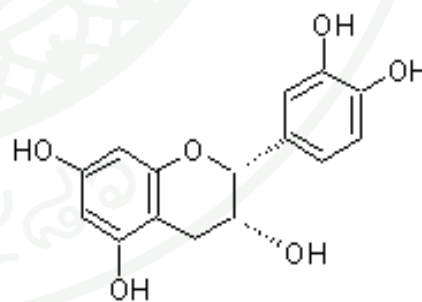
ellagic acid

ภาพที่ 2 โครงสร้างของไฮโดรไลซ์เซเบิลแทนนิน (hydrolysable tannin)

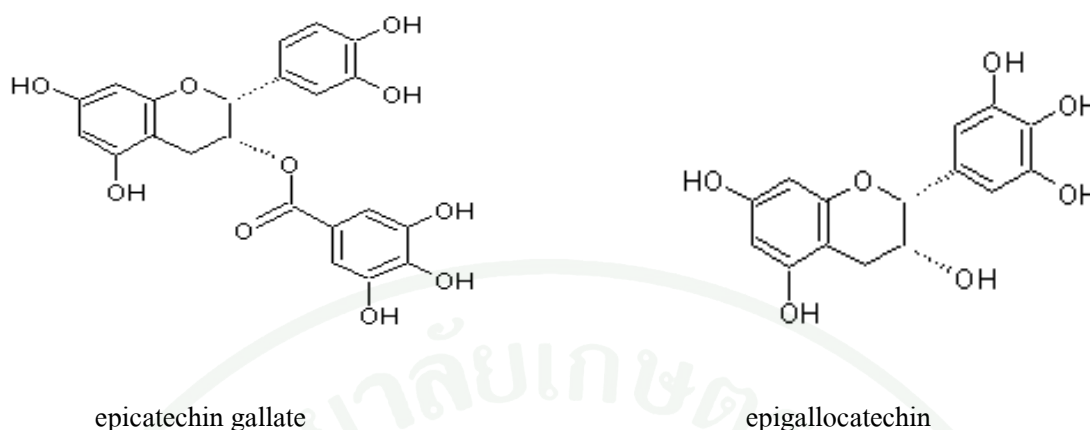
ที่มา: Haslam (1993)



gallocatechin gallate



epicatechin



ภาพที่ 3 โครงสร้างของคอนเดนซ์แทนนิน (condensed tannin)

ที่มา: Haslam (1989)

บทบาทที่สำคัญของแทนนิน

1. คุณสมบัติการเป็นสารคีเลต (chelating agent) ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์

แทนนินสามารถทำปฏิกิริยากับธาตุเหล็กเกิดเป็นสารประกอบคีเลต (chelate) คุณสมบัติดังกล่าวคล้ายกับการสร้าง siderophores ของเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งมีความสำคัญและจำเป็นในการจับกับธาตุเหล็ก เพื่อนำไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ไรโบนิวคลีโอไทด์ (ribonucleotide) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ (deoxyribonucleotide, DNA) และการสร้างฮีโม (heme) ของแบคทีเรีย (Scalbert, 1991; Chung *et al.*, 1998) ดังนั้น การเกิดคีเลตระหว่างแทนนินกับธาตุเหล็กจึงเป็นการขัดขวางแบคทีเรียไม่ให้นำธาตุเหล็กไปใช้ประโยชน์ได้หรือทำให้การใช้ประโยชน์ได้ของธาตุเหล็กลดลง ทั้งยังสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เพกตินเอส (pectinase) เซลลูเลส (cellulase) และเปอร์ออกซิเดส (peroxidase) ที่จุลินทรีย์ปล่อยออกมานอกเซลล์ ทำให้เอนไซม์ดังกล่าวทำงานได้น้อยลง และยังทำให้เกิดการสูญเสียสารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตหรือสารที่ใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ โดยมีผลยับยั้งกระบวนการออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชัน (oxidative phosphorylation) ส่งผลให้จุลินทรีย์มีรูปร่างผิดปกติ นอกจากนี้ Mila *et al.* (1996) พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ *Erwinia chrysanthemi* ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารที่มีสารแทนนินแต่เมื่อมีการเพิ่มธาตุเหล็กทำให้เชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้สามารถเจริญเติบโตได้อีกครั้ง

2. คุณสมบัติการตกตะกอนกับโปรตีน

โดยการออกฤทธิ์ของแทนนินต่อเชื้อหุ้มเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์โดยตรง ซึ่งอาจเข้าทำปฏิกิริยากับโปรโตพลาสมาของจุลินทรีย์ทำให้เกิดการตกตะกอน หรือขัดขวางกระบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอน ที่เกิดขึ้นภายในไมโทคอนเดรีย ทำให้จุลินทรีย์มีรูปร่างและการเจริญเติบโตผิดปกติ เช่น *Pseudomonas fluorescens*, *E. coli* และ *Celivibrio fulvus* เมื่อได้รับกรดแทนนินระดับ 0.6-1.0 กรัม/ลิตร ทำให้จุลินทรีย์เรียงตัวเป็นเส้นสาย (Scalbert, 1991) แต่การออกฤทธิ์ของแทนนินไม่ได้จำเพาะเจาะจงต่อเชื้อจุลินทรีย์เท่านั้น แต่ยังสามารถทำปฏิกิริยากับเนื้อเยื่อได้นอกจากนี้ แทนนินยังมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์อย่างมีนัยสำคัญ คือ สามารถรวมกับเอนไซม์ซึ่งเป็นโปรตีนชนิดหนึ่ง โดยปริมาณของแทนนินและเอนไซม์ต้องอยู่ในระดับที่เหมาะสม คือ แทนนิน 20 โมเลกุลต่อเอนไซม์ 1 โมเลกุล (Goldstein and Swain, 1965) ในพืชบางชนิดที่มีแทนนินเป็นส่วนประกอบ อาจมีกลไกการป้องกันตัวเองจากสัตว์ที่กินพืชเป็นอาหารโดยเกิดจากความสามารถของแทนนินในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรตีเอส (protease) ที่สัตว์ปล่อยออกมา แต่ยังขาดข้อมูลเกี่ยวกับการศึกษากลไกดังกล่าว (Ryan and Green, 1974) ต่อมา Hagerman and Butler (1980) รายงานว่า แทนนินสามารถรวมตัวกับกรดอะมิโนโพรลีนในปริมาณสูงได้ดีกว่าโปรตีนชนิดอื่น แสดงว่ากรดอะมิโนเป็นปัจจัยสำคัญต่อการรวมตัวระหว่างแทนนินกับโปรตีน และการออกฤทธิ์ของแทนนินอาจมีผลโดยตรงต่อเชื้อหุ้มเซลล์ของ จุลินทรีย์ที่ทำปฏิกิริยากับโปรโตพลาสมาของจุลินทรีย์ทำให้เกิดการตกตะกอน หรือไปขัดขวางการถ่ายทอดอิเล็กตรอนจากการรายงานของ Scalbert (1991) พบว่า ถ้ำร่างกายได้รับแทนนินในระดับต่ำจะมีผลทำให้เนื้อเยื่อทางเดินอาหารชั้นนอกตกตะกอน แต่ถ้าได้รับในปริมาณสูงจะมีผลต่อเนื้อเยื่อทางเดินอาหารชั้นที่ลึกลงไปซึ่งทำให้เกิดการอักเสบและเกิดอาการท้องเสียได้

3. คุณสมบัติในการฆ่าหนอนพยาธิ (antithelmintic effect)

คอนเดนซ์แทนนิน หรือโพรแอนโทไซยานิน (proanthocyanin) สามารถจับกับโปรตีนและป้องกันการทำลายของโปรตีนโดยจุลินทรีย์ที่อยู่ที่กระเพาะหมัก สามารถต้านทานต่อพยาธิในทางเดินอาหารของสัตว์ได้ (Robertson *et al.*, 1995) ดังนั้น การบริโภคพืชที่มีคอนเดนซ์แทนนินเป็นส่วนประกอบมีผลโดยตรงต่อการลดจำนวนพยาธิในกระเพาะอาหารและลำไส้ โดยเฉพาะปรสิต (Athnasiadou *et al.*, 2000; Iqbal *et al.*, 2002) สามารถลดจำนวน faecal egg count (FEC) ได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยในวันที่ 60 และ 120 แกะที่ได้รับอาหารเสริมด้วยคอนเดนซ์

แทนนินในระดับ 3 เปอร์เซ็นต์ โดยกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมด้วยคอนเดนซ์แทนนิน มีค่าสมมูลไนโตรเจนสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (Athnasiadou *et al.*, 2000) การใช้แทนนินถ่ายพยาธิมีวัตถุประสงค์เพื่อปรับปรุงความต้านทานและการคืนสภาพของกระเพาะและลำไส้เพิ่มขึ้น (Donaldson *et al.*, 1997) และยังทำให้ฮอร์โมนที่ใช้ในการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น การศึกษาในแกะและโคที่ได้รับคอนเดนซ์แทนนินระดับต่างกัน คือ 30-40 และ 100-120 กรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักแห้ง (Min *et al.*, 2002a,b) นอกจากนี้ Cenci *et al.* (2007) พบว่า เมื่อแกะได้รับคอนเดนซ์แทนนิน 18 เปอร์เซ็นต์ จะสามารถลดจำนวนไข่พยาธิที่อยู่ในร่างกายแกะได้ดังนี้ *Trichostrongylus colubriformis*, *Haemonchus contortus*, *Cooperia* sp., *Strongyloides papillosus*, *Trichuris globulosa* และ *Moniezia expansa* ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Niezen *et al.* (1995) ที่รายงานว่าพืชอาหารสัตว์ที่มีคอนเดนซ์แทนนินสูงมักเป็นทางเลือกในการควบคุมพยาธิในลำไส้

4. ความสามารถของจุลินทรีย์ที่อยู่ได้ในสภาวะที่มีแทนนิน

ถึงแม้ว่าแทนนินจะมีคุณสมบัติในการต่อต้านจุลินทรีย์ก็ตาม แต่มีจุลินทรีย์บางชนิด เช่น เชื้อราสกุล *Aspergillus niger* และ *Penicillium glaucum* โดยจุลินทรีย์เหล่านี้สามารถอยู่ได้ในสภาวะที่มีแทนนินสูง ได้แก่ ไม้เนื้อแข็ง quebracho และไม้โอ๊คยูโรเปียน จุลินทรีย์กลุ่มดังกล่าวจะหลั่งสารโพลีเมอร์ออกมาจับแทนนิน ทำให้แทนนินไม่สามารถไปจับกับโมเลกุลของสารชนิดอื่น ซึ่งเป็นสารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เช่น สปอร์ของเชื้อรา *Collettrichum graminicola* เมื่อหลั่งสารเมือกซึ่งเป็นสารพวกไกลโคโปรตีนที่สามารถละลายน้ำและรวมตัวกับคอนเดนซ์แทนนินได้ แต่มีจุลินทรีย์บางชนิดที่สามารถทนต่อการทำงานของเอนไซม์แทนเนสและแอลฟา-อะไมเลส ซึ่งสามารถทำงานได้ดีถ้ามีแทนนินความเข้มข้นสูง แต่ยังไม่ทราบกลไกการทำงานที่ชัดเจน การออกซิเดชันของแทนนินโดยเอนไซม์ในกลุ่มโพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase) เป็นการสลายพิษอีกวิธีโดยแทนนินจะกระตุ้นให้รา *Trametes hirsute* และ *Fomes annosus* ให้หลั่งเอนไซม์แลคเตส และรา *Xanthomonas malvaccarum* หลั่งเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสออกมา (peroxidase) และเชื้อราให้มีการสร้างสารซิงเคอร์โรฟอว์ (siderophore) เพื่อป้องกันไม่ให้แทนนินเข้าจับกับไอออนของโลหะซึ่งมีประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของรา และยังช่วยให้ราจับกับไอออนของโลหะได้มากขึ้น ยังไม่มีหลักฐานที่ชัดเจนว่าสารซิงเคอร์โรฟอว์มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของแทนนินในเนื้อไม้ แต่อาจเป็นไปได้ว่าแทนนินในปริมาณมากจะทำให้สารซิงเคอร์โรฟอว์มีมากขึ้นด้วยเพื่อช่วยในการดูดซึมเหล็กจากเนื้อไม้ (Strumeyer and Malin, 1970; Kommonos, 1988)

ผลของแทนนินต่อคุณค่าอาหารสัตว์ปีก

แทนนินมีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารของสัตว์ด้อยลง ผลการทดลองกับแมลง หนู ไก่ และเป็ด ออกมาในทำนองเดียวกัน แต่สำหรับสัตว์ที่มีกระเพาะหมักและสุกร ผลของแทนนินที่เสริมลงในอาหารสัตว์ไม่แสดงชัดเจน โดยจะแสดงออกเมื่อมีแทนนินในอาหารสูงกว่า 1-2 เปอร์เซ็นต์ ในสัตว์ปีก ปริมาณแทนนินที่ระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ จะไม่มีผลเสียต่อการเจริญของสัตว์ แต่แทนนินที่ระดับ 0.5-2 เปอร์เซ็นต์ จะมีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตของสัตว์ลดลง (Moseley and Griffiths, 1979) Vohra *et al.* (1966) รายงานว่า การเสริมแทนนิน 0.5 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้อัตราการเจริญเติบโตของไก่ลดลง และหากอาหารมีปริมาณกรดแทนนิกระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้ไก่มีอัตราการตายสูงถึง 70 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 7-11 วัน และการเพิ่มกรดแทนนิกในอาหารไก่กระทงจะมีผลทำให้ไก่กินอาหารน้อยลง ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้น้ำหนักตัวไก่ลดลง จากการตรวจดูซากพบว่า เนื้อเยื่อชั้น mucosa ในหลอดอาหารถูกทำลาย ขณะที่ Joslyn and Glick (1969) พบว่า อัตราการตายของไก่จะสูงกว่าหนูเมื่ออาหารมีกรดแทนนิก 3-7 เปอร์เซ็นต์ การได้รับสารแทนนินจาก chesnut, quebracho, quercyl และ wattle bark ที่ระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ จะลดอัตราการเพิ่มน้ำหนักตัวของสัตว์ อย่างไรก็ตาม Fuller *et al.* (1967) รายงานว่า การเสริมกรดอะมิโนเมทไธโอนีน อาร์จินีน และวิตามินโคลีนในอาหารเพียงอย่างใดอย่างหนึ่งหรือการเสริมทั้ง 3 ชนิดรวมกันจะสามารถลดพิษของกรดแทนนิกได้ แต่ต้องใช้กรดแทนนิกในระดับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร

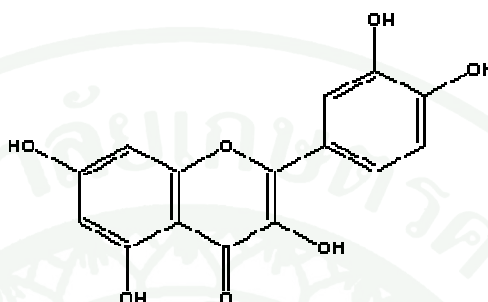
Potter *et al.* (1967) รายงานว่า ผลผลิตไข่จะลดลงเมื่อเลี้ยงไก่ไข่ด้วยอาหารที่มีกรดแทนนิก 1 เปอร์เซ็นต์ และผลผลิตไข่จะลดลงไปอีกเมื่ออาหารมีกรดแทนนิกสูงถึง 2 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่า ไข่แดงจะมีสีผิดปกติไป โดยจะมีจุดสีเขียวมากขึ้น แต่ไม่มีผลกระทบต่อน้ำหนักไข่ โดยค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโปรตีนกับแทนนินเท่ากับ 0.82 เมื่อแม่ไก่ได้รับอาหารที่ประกอบด้วยถั่วชนิดต่างๆ ที่มีแทนนินในระดับต่างกัน Martin-Tanguy *et al.* (1977) รายงานว่า ถั่วที่มีแทนนินสูงมีผลให้น้ำหนักไข่ลดลง และยังมีผลกระทบต่อผลผลิตไข่ แต่ไม่มีการเปรียบเทียบทางสถิติไว้ และค่าสหสัมพันธ์เป็นปฏิภาคผกผันระหว่างน้ำหนักไข่และปริมาณแทนนินในอาหาร ขณะที่ สกอล (2548) รายงานว่า สัตว์ที่ได้รับอาหารที่มีแทนนินในระดับสูงกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้การใช้ประโยชน์ของโปรตีนลดลง มีการทำลายเยื่อเมือกบุผิว (mucosal lining) ของทางเดินอาหาร มีการเปลี่ยนแปลงการขับออกของประจุบวกบางอย่าง และมีการขับโปรตีนและกรดอะมิโนที่จำเป็นออกจากร่างกายเพิ่มขึ้น ในสัตว์ปีกที่ได้รับแทนนินใน

อาหารที่ระดับ 0.5-2.0 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้การเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตลดลง และหากได้รับในระดับ 3-7 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้สัตว์ตาย

2. เควอร์ซีติน (quercetin)

สารเควอร์ซีตินจัดเป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ชนิดหนึ่ง มักพบในพืชและผักหลายชนิด โดยพบมากในหัวหอม หอมแดง รวมทั้งฝรั่งด้วย โดยเฉพาะส่วนของใบ (Lozoya *et al.*, 1994) สารเควอร์ซีตินมีโครงสร้างทางเคมีคล้ายมอร์ฟีน ดังภาพที่ 4 มีคุณสมบัติยับยั้งการหลั่งอะเซติลโคลีน (Lutterodt, 1989; Re *et al.*, 1999) และขัดขวางการผ่านเข้าเซลล์ของแคลเซียมบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้กล้ามเนื้อเรียบคลายตัว จึงมีผลยับยั้งการหดตัวและลดการบีบตัวของผนังลำไส้ (Morales and Lozoya, 1994) นอกจากนี้ ยังเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ด้านการเกิดมะเร็ง การแข็งตัวของเลือด ด้านไวรัส ยับยั้งและต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ (Hertog *et al.*, 1993; Keli *et al.*, 1996; Bozena *et al.*, 2008) Rauha *et al.* (2000) พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของเควอร์ซีติน 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *B. subtilis*, *E. coli*, *Micrococcus luteus*, *S. aureus*, *S. epidermidis* แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. niger* และเชื้อยีสต์บางชนิดได้ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Basile *et al.* (1999) ซึ่งพบว่า สารเควอร์ซีตินมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบได้ รวมทั้งเชื้อราบางชนิด สำหรับระดับความเป็นพิษของสารเควอร์ซีตินยังมีการศึกษาอยู่ค่อนข้างจำกัด จากรายงานของ Metodiewa *et al.* (1999) พบว่า สารเควอร์ซีตินสามารถก่อให้เกิดพิษแก่ร่างกายสัตว์โดยอาจเปลี่ยนไปเป็นสาร prooxidant ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณที่ร่างกายได้รับ และจากรายงานของ Hollman *et al.* (1995) รายงานว่า การได้รับสารเควอร์ซีตินในระดับสูงเกินไปก่อให้เกิดพิษต่อร่างกายได้ โดยทำให้หนูทดลองมีน้ำหนักตัวลดลงและมีอัตราการตายสูงขึ้น นอกจากนี้ เควอร์ซีตินยังต่อต้านการเจริญของเซลล์มะเร็ง (anticancer) โดยยับยั้งวงจรชีวิตของเซลล์มะเร็งทำให้หยุดการขยายตัวของเซลล์รวมถึงการเกิดอะพอโตซิส (apoptosis) หรือการตายของเซลล์ในการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้ ซึ่งจากการทดลองในหนูที่เป็นมะเร็งตับอ่อน เควอร์ซีตินจะลดการโตของเนื้องอกขึ้นต้นเพิ่มการตายของเซลล์มะเร็ง และลดการเคลื่อนย้ายเซลล์จากอวัยวะหนึ่งไปยังอวัยวะหนึ่งด้วย (Choi *et al.*, 2001; Mouria *et al.*, 2002) Ranelletti *et al.* (2000) ได้ศึกษาในเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และการเกิดเนื้องอกขึ้นต้นของลำไส้ พบว่า สารเควอร์ซีตินจะช่วยลดระดับของโปรตีนพี 21 ราช (p21 ras) ซึ่งเป็นโปรตีนที่พบในเซลล์เนื้องอก และสามารถแพร่กระจายจนกลายเป็นโรคมะเร็งในระยะต่อไป ซึ่ง Richter *et al.* (1999) ได้รายงานบทบาทที่

สำคัญในการตายของเซลล์เนื่องจากได้ของเคอร์ซีติน โดยยับยั้งกระบวนการออกซิเดทีฟ ฟอสฟอริเลชันของกลุ่มเซลล์ที่ได้รับการกระตุ้นจากสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์เนื่องจาก และทำลายการเจริญเติบโตของเซลล์นั้น



ภาพที่ 4 โครงสร้างทางเคมีของสารเคอร์ซีติน

ที่มา: Haslam (1986)

การศึกษาพิษของใบฝรั่ง

พีรรัชต์ และคณะ (2540) ได้ทดสอบความเป็นพิษเฉียบแบบพลันในหนูขาวใหญ่โดยให้น้ำสกัดใบฝรั่งทางปาก ขนาด 2.5 5 10 และ 20 กรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เพียงครั้งเดียว ผลการทดสอบไม่พบความเป็นพิษใดๆ ในทุกขนาดของสารสกัดที่ให้ ดังนั้นค่า LD_{50} จึงมีค่ามากกว่า 20 กรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม สำหรับการศึกษาความเป็นพิษแบบกึ่งเฉียบพลันในหนูขาวใหญ่ที่ได้รับน้ำสกัดใบฝรั่งทางปากขนาด 1 2 และ 4 กรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม วันละครั้ง ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน ผลการศึกษาไม่พบพฤติกรรมที่ผิดปกติ อัตราการเจริญเติบโต ค่าทางโลหิตวิทยา การทำงานของตับและไต โดยศึกษาระดับเอนไซม์ SGOT, SGPT, ALP, direct bilirubin, total bilirubin, total protein, albumin, cholesterol, creatine และ BUN ในหนูขาวทุกกลุ่มทดลองที่ได้รับน้ำสกัดจากใบฝรั่ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกลุ่มควบคุม ($P>0.05$) ซึ่งผลการตรวจดูอวัยวะภายใน และการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาของตับไม่พบความผิดปกติใดๆ ในหนูทุกกลุ่ม ซึ่งแสดงว่าสารสกัดจากใบฝรั่งไม่มีความเป็นพิษต่อตับ นอกจากนี้ วันชัย และคณะ (2543) ได้ทดลองใช้น้ำสกัดใบฝรั่งในการรักษาโรคท้องร่วงในหนูทดลองที่ชักนำให้เกิดอาการท้องร่วง โดยการให้น้ำมันละหุ่ง 0.5 มิลลิลิตรต่อตัว พบว่า การใช้น้ำสกัดใบฝรั่งขนาด 0.5 และ 1.0 กรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มีผลในการป้องกันการถ่ายเหลวในหนูถีบจักรได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

การใช้ใบฝรั่งในอาหารสัตว์

สถาพร และ อุษณีย์ (2535) ศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากใบฝรั่งกับเชื้อ vibrio (vibrio) ที่แยกได้จากกุ้งกุลาดำที่เป็นโรค จำนวน 23 สายพันธุ์ ได้แก่ *Vibrio harveyi* 9 สายพันธุ์ *V. splendidus* 7 สายพันธุ์ *V. parahaemolyticus* 2 สายพันธุ์ *V. minicus* 1 สายพันธุ์ *V. vulnificus* 1 สายพันธุ์ *V. fluvaris* 1 สายพันธุ์ *V. cholerae* 1 สายพันธุ์ *V. alginolyticus* 1 สายพันธุ์ พบว่า เชื้อแบคทีเรีย 21 สายพันธุ์ จะถูกยับยั้งการเจริญเติบโตด้วยสารสกัดหยาบจากใบฝรั่งที่ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร อย่างไรก็ตาม ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ทุกสายพันธุ์ ซึ่งต่อมา ลิลา และคณะ (2539) ได้ศึกษาฤทธิ์สารสกัดจากสมุนไพร 16 ชนิด ได้แก่ กระเพราแดง กระเพราขาว ขุมเห็ดเทศ ชิงช้าชาลี กะเม็ง บอระเพ็ด ฝรั่ง พญาขอ ฟ้ายะลวยโจร มะระขี้นก ก้างปลาเครือ ธรณีสาร มะยม และลูกใต้ใบอีก 3 ชนิด ได้แก่ *Phyllanthus amarus*, *P. debelis* และ *P. urinaria* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ vibrio 10 สายพันธุ์ ที่ก่อโรคในกุ้งกุลาดำ ผลการทดสอบมีสมุนไพรเพียง 11 ชนิดเท่านั้น ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคโดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่แตกต่างกันตามความเข้มข้นที่ไม่เท่ากัน แต่มีพืชสมุนไพรอยู่ 2 ชนิด คือ ฝรั่ง และ มะระขี้นก ที่สามารถยับยั้งเชื้อได้แม้จะใช้สารสกัดในระดับความเข้มข้นต่ำเพียง 0.625 และ 1.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยฝรั่งสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ด้วยความเข้มข้นที่ต่ำกว่ามะระขี้นก คือ ที่ความเข้มข้น 0.625 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นอกจากนี้ เพ็ญศรี และคณะ (2548) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดด้วยวิธีการต้ม จากใบฝรั่งสด ใบฝรั่งตากแห้ง และใบฝรั่งตากแห้งที่เก็บไว้นาน 1 เดือน ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ vibrio 7 ชนิด ที่แยกได้จากกุ้งกุลาดำที่เป็นโรค พบว่า ความร้อนจากการต้มไม่มีผลต่อฤทธิ์ของสารสกัดจากใบฝรั่ง โดยสารสกัดสามารถออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ vibrio ได้ดี และใบฝรั่งสดกับใบฝรั่งตากแห้งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ vibrio ได้ดีกว่าใบฝรั่งตากแห้งที่เก็บไว้นานเกิน 1 เดือน โดยมีค่า MIC ของเชื้อ *V. damsela*, *V. alginolyticus*, *V. PelagiusI*, *V. vulnificus*, *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus* และ *V. meniscus* เท่ากับ 0.078 0.025 0.156 0.156 0.313 0.313 และ 1.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

เชนทร์ (2547) ทดลองเสริมใบและผลอ่อนของฝรั่งในอาหารไก่เนื้อเปรียบเทียบกับ การเสริมสารแทนนินและสารปฏิชีวนะคลอเตตราซัยคลิน พบว่า การเสริมผลอ่อนของฝรั่งระดับ 1 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร ซึ่งมีปริมาณแทนนิน 135-139 พีพีเอ็ม ทำให้การเจริญเติบโตและอัตราแลกเนื้อดีขึ้น นอกจากนี้ นิพนธ์ และ มณีรัตน์ (2545) ศึกษาการเสริมใบฝรั่งบดที่ระดับ 0.2 และ

0.4 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหารไก่เนื้อ พบว่า มีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโต ปริมาณอาหารที่กิน และอัตราการแลกเนื้อ ไม่แตกต่างกับการเสริมยากันบิดซาลิโนมายซินที่ระดับ 50 พีพีเอ็ม ยกเว้น ในช่วงอายุ 1-3 สัปดาห์ของการเลี้ยง กลุ่มเสริมไบฟริงบดที่ระดับ 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการแลกเนื้อดีกว่ากลุ่มที่เสริมไบฟริงบดที่ระดับ 0.4 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อศึกษาความต้านทานของโรคบิด ต่อไบฟริง โดยนำลำไส้มาตรวจหารอยโรคบิดทางจุลพยาธิวิทยา พบว่า กลุ่มที่เสริมไบฟริงบดที่ระดับ 0.2 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์ในอาหารมีรอยโรคน้อยกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมไบฟริงบดอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ซึ่งให้ผลการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองของ บังอร และคณะ (2547) ที่ได้ศึกษาระดับและชนิดของสมุนไพร ไบฟริง กระชาย และไพล ทดสอบความเป็นพิษและผลต่อการป้องกันโรคบิดในไก่เนื้อ เปรียบเทียบกับการเสริมยากันบิดแอมโพรเลียม พบว่า การเสริมไบฟริงที่ระดับ 3 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหาร มีแนวโน้มช่วยลดอัตราการของโรคบิดในไก่เนื้อได้ และมีผลทำให้ค่า hematocrit สูงกว่ากลุ่มควบคุม และใกล้เคียงกับกลุ่มที่ได้รับยากันบิด ซึ่งสัมพันธ์กับคะแนนรอยโรคที่อายุ 6 และ 7 สัปดาห์ ต่อมาเมื่อมีการศึกษาเพิ่มเติมโดย สุธา และคณะ (2548) โดยทดลองเสริมฟ้าทะลายโจรและไบฟริงในอาหารไก่เนื้อ พบว่า การใช้สมุนไพรผสมไบฟริงและฟ้าทะลายโจรที่ระดับ 0.2 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารไก่กระทองอายุ 0-6 สัปดาห์ ไม่มีผลกระทบต่อปริมาณอาหารที่กิน น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร อัตราการตาย และคุณภาพซาก แต่อาหารที่เสริมด้วยไบฟริงในระดับ 0.2 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์ หรือการเสริมไบฟริงร่วมกับฟ้าทะลายโจรระดับต่ำ ทำให้ไก่เนื้อเพศผู้มีเปอร์เซ็นต์ไขมันช่องท้องลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

วรรณพร (2547) ศึกษาการใช้สารสกัดจากไบฟริงในการรักษาโรคท้องร่วงในลูกสุกร โดยเสริมสารสกัดไบฟริงที่ระดับ 1 และ 2 กรัม/วัน ตามลำดับ เปรียบเทียบกับการใช้ยาโคลิสติน พบว่า การเสริมสารสกัดไบฟริงทั้ง 2 ระดับ ให้ผลไม่แตกต่างกับกลุ่มที่รักษาด้วยยาโคลิสติน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ อรุณวรรณ (2538) ซึ่งทดลองใช้น้ำคั้นไบฟริง 1 ส่วน ต่อน้ำ 1 ส่วน โดยน้ำหนัก มาปั่นรวมกันแล้วคั้นเอาสารละลายที่ได้มาเจือจางให้มีความเข้มข้น 25 50 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับการใช้ยาเซลบาร 4.5 เปอร์เซ็นต์ รักษาโรคไข้หวัดในลูกสุกรระยะคุณนม พบว่า ระยะเวลาในการรักษาโรคและอัตราการเจริญเติบโตของลูกสุกรทุกกลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เช่นเดียวกับการทดลองของ วิศิษฐ์ และคณะ (2544) ที่ใช้เกลือแร่ ORS ระดับ 500 มิลลิกรัมร่วมกับไบฟ้าทะลายโจร 500 มิลลิกรัม และไบฟริง 1,000 มิลลิกรัมต่อครั้ง ในการรักษาโรคท้องร่วงในลูกสุกร มีผลทำให้น้ำหนักตัวและอัตราการ

เจริญเติบโตเฉลี่ยเมื่อหายป่วยดีกว่ากลุ่มที่ไม่ใช้เกลือแร่ ORS ร่วมกับฟ้าทะลายโจรและใบฝรั่ง อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

ยุทธนา และคณะ (2545) ทดลองให้ลูกสุกรได้รับใบฝรั่งสด 500 มิลลิกรัม/ตัว/วัน พบว่า จำนวนวันที่ใช้ในการรักษาโรคไม่แตกต่างกับกลุ่มที่ได้รับยาปฏิชีวนะโคลิสตินที่ระดับ 1 มิลลิกรัม/ตัว/วัน ส่วนการใช้ใบฝรั่งขนาด 750 มิลลิกรัม/ตัว/วัน มีแนวโน้มช่วยให้ลูกสุกรหายเร็วกว่าการใช้ยาปฏิชีวนะ และการใช้ใบฝรั่งขนาด 750 และ 1,000 มิลลิกรัม/ตัว/วัน มีแนวโน้มทำให้มูลแข็งและทวารเป็นปกติใกล้เคียงกับการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ แต่การใช้ใบฝรั่ง 1,000 มิลลิกรัม/ตัว/วัน มีแนวโน้มทำให้อัตราการเจริญเติบโตสูงกว่าการใช้ยาปฏิชีวนะและใกล้เคียงกับลูกสุกรกลุ่มที่ไม่ป่วย ต่อมาการศึกษาเพิ่มเติมโดย เบญญาภา และคณะ (2550) ซึ่งทดลองใช้ผลกล้วยดิบและใบฝรั่งผงในอาหารไก่เนื้อ ผลการทดลองปรากฏว่า การเสริมใบฝรั่งผง ที่มีแทนนิน 1,287 พีพีเอ็ม ในอาหารมีแนวโน้มทำให้ค่าโลหิตวิทยาเพิ่มขึ้นสูงกว่าปกติ และทำให้สุขภาพไก่และสมรรถนะการให้ผลผลิตไก่เนื้อในช่วง 0-42 วัน ดีเทียบเท่าการใช้ปฏิชีวนะและยากันบิด และทำให้ความสูงของวิลโลเพิ่มขึ้น แต่การเสริมกล้วยดิบผงระดับ 3.5 เปอร์เซ็นต์ หรือใบฝรั่งผงระดับ 1.2 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับกล้วยดิบผง 3 เปอร์เซ็นต์ จะสามารถส่งเสริมภูมิคุ้มกันโรคในไก่เนื้อให้สูงขึ้นได้ แต่อาจส่งผลต่อการกินอาหารและการเจริญเติบโตลดลง อย่างไรก็ตาม การใช้ใบฝรั่งในการรักษาโรคต้องคำนึงถึงความปลอดภัยเป็นอย่างมาก เพราะสารแทนนินที่มีอยู่ในใบฝรั่งและผลอ่อนเป็นสารที่มีรสฝาด หากได้รับปริมาณสูงจะเกิดอาการท้องผูก การอักเสบ แผลในทางเดินอาหาร และยังเป็นพิษต่อดับและไต (พรนิกา, 2526) จากรายงานของ เอมม่นัส และคณะ (2538) ที่ศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันและพิษเรื้อรังของสารสกัดใบฝรั่งที่มีต่อหนูทดลอง โดยป้อนสารสกัดใบฝรั่งขนาด 20 กรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว พบว่า ไม่ก่อให้เกิดพิษเฉียบพลันต่อหนูทดลอง (โดยมีค่า LD_{50} มากกว่า 20 กรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว) แต่เมื่อศึกษาความเป็นพิษเรื้อรังเป็นเวลา 6 เดือน พบว่า สารสกัดจากใบฝรั่งมีความเป็นพิษต่อเซลล์ตับหนูทดลอง อย่างไรก็ตาม บังอร และคณะ (2547) ทดลองหาระดับความเป็นพิษของสารสกัดใบฝรั่งที่มีต่อเซลล์ตัวอ่อนไก่เปรียบเทียบกับการใช้ยากันบิดแอมโพเลียม พบว่า สารสกัดใบฝรั่งมีความปลอดภัยต่อเซลล์ตัวอ่อนไก่มากกว่ายากันบิด โดยมีค่า LD_{50} เท่ากับ 82 ไมโครกรัม

ความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidative stress)

การเกิดความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidative stress) ถือเป็นภาวะที่ไม่ปกติของร่างกายซึ่งเป็นผลมาจากความไม่สมดุลของการสร้างและการกำจัดอนุมูลอิสระ การเพิ่มขึ้นของปฏิกิริยาออกซิเดชัน ที่มีการเสียสมดุลไปของสารชีวเคมีในร่างกายระหว่างที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยมีปริมาณอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น และทำให้สารต้านอนุมูลอิสระลดลง ส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อดีเอ็นเอ (DNA damage) การดัดแปลงโครงสร้างของโปรตีน (protein modification) และการเกิดกระบวนการเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (lipid peroxidation; Halliwell and Gutteridge, 1989)

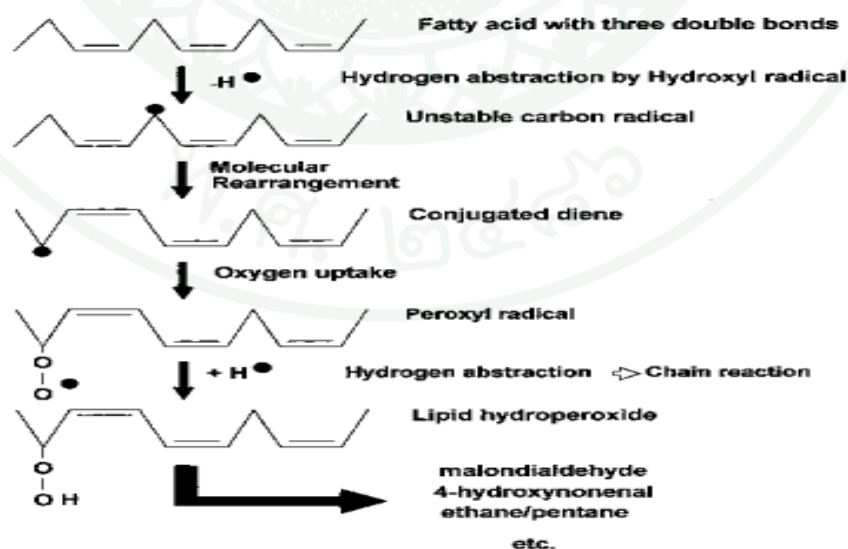
เปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (lipid peroxidation)

เยื่อหุ้มเซลล์มีส่วนประกอบของไขมันหลายชนิด โดยมีคุณสมบัติในการรักษาสภาพการเป็นของไหล (membrane fluidity) ภายในเยื่อหุ้มเซลล์มีโปรตีนซึ่งมีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของเซลล์ โดยทำหน้าที่ควบคุมการผ่านเข้าออกของไอออน ควบคุมสมดุลออสโมติก หรือทำหน้าที่เป็นตัวรับสัญญาณของเซลล์กรณีที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นบริเวณใกล้เยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งเป็นฟอสโฟลิปิด (phospholipids) และมีไขมันเป็นองค์ประกอบอยู่นั้น ไขมันที่พบเป็นไขมันสายยาวชนิดไม่อิ่มตัว (polyunsaturated fatty acid) คือ arachidonic acid และ linoleic acid ซึ่งจะถูกดึงไฮโดรเจนอะตอม (hydrogen atom) ออกจากกลุ่ม $=CH-$ หนึ่งอะตอมในกรดไขมันทำให้ไขมันดังกล่าวเกิดเป็น carbon-centered radical จากนั้นจะรวมกับออกซิเจนแล้วเปลี่ยนเป็น peroxy radicals อยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ เกิดเป็น lipid hydroperoxide ซึ่งจะเคลื่อนย้ายจากบริเวณส่วนกลางของเยื่อหุ้มเซลล์ไปที่ผิวด้านนอกแทน ทำให้ไขมันดังกล่าวเปลี่ยนเป็น reactive radical และการย้ายตำแหน่ง คือ ทำให้โครงสร้างและการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์เสียไป โดยมีการรั่วไหลของไอออนต่างๆ เข้ามาในเซลล์ ทำลายโปรตีนที่ผนังเซลล์ นอกจากนี้ lipid hydroperoxide ยังถูกเปลี่ยนเป็นสารพวกอัลดีไฮด์ (aldehyde) โดยมีเหล็กและทองแดงไอออนเป็นตัวช่วย (cofactor) อัลดีไฮด์ที่เกิดขึ้น เช่น malondialdehyde (MDA) และ hydroxynonenal (HNE) ซึ่งมีอันตรายต่อเซลล์เช่นกัน โดยสามารถทำให้โปรตีน และดีเอ็นเอในเซลล์เปลี่ยนแปลงได้ โดย Bohnstedt (2005) ได้อธิบายกลไกของการเกิด lipid peroxidation ไว้ 3 ขั้นตอนดังนี้

1. ขั้นเริ่มต้น (initiation step) การเกิดปฏิกิริยาเริ่มจากกรดไขมันสายยาวชนิดไม่อิ่มตัวถูกดิงไฮโดรเจนอะตอมออกจาก methylene ($-\text{CH}_2-$) group ที่ตำแหน่งถัดจากพันธะคู่ โดยอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล (hydroxyl radical) หรืออนุมูลอิสระตัวอื่นทำให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระที่ไม่เสถียร (lipid radical หรือ carbon-centered radical) จึงพยายามทำให้ตัวเองเสถียร โดยจัดเรียงโมเลกุลใหม่เป็นรูป conjugated diene ซึ่งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน จะได้เป็นอนุมูลอิสระเปอร์ออกซิล (peroxyl radical; $\text{ROO}^\bullet$) จากนั้นอนุมูลอิสระเปอร์ออกซิลจะไปดิงไฮโดรเจนอะตอมออกจากโมเลกุลของไขมันเพื่อทำให้ตัวเองเสถียร ขณะเดียวกันก็ทำให้อนุมูลอิสระชนิดไขมันขึ้น

2. ขั้นต่อเนื่อง (propagation step) อนุมูลอิสระชนิดไขมันที่เกิดขึ้นจะไปทำปฏิกิริยากับออกซิเจน เกิดเป็นอนุมูลอิสระไขมันเปอร์ออกซิล (lipid peroxyl radical; $\text{LOO}^\bullet$) จากนั้นอนุมูลอิสระไขมันเปอร์ออกซิลจะไปทำปฏิกิริยากับโมเลกุลไขมันที่อยู่ข้างเคียง โดยดิงไฮโดรเจนอะตอมออกแล้วเกิดเป็นไขมันไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (lipid hydroperoxide; LOOH) และอนุมูลอิสระไขมันที่ไม่คงตัวโดยเกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อเนื่องไป

3. ขั้นสิ้นสุด (termination step) ปฏิกิริยาเกิดขึ้นได้ 2 แบบ คือ การที่อนุมูลอิสระไขมันที่ไม่คงตัว 2 โมเลกุลมาจับกันหรือการที่อนุมูลอิสระไขมันที่ไม่คงตัวมาจับกับอนุมูลอิสระไขมันเปอร์ออกซิลทำให้เป็นโมเลกุลที่คงตัว ได้แก่ อีเทน (ethane) และไขมันแอลดีไฮด์ (lipid aldehyde) ซึ่งกลไกการเกิดกระบวนการเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน ดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 กลไกการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน

ที่มา: Bohnstedt (2005)

การเกิดพิษของสารอนุมูลอิสระ

สารอนุมูลอิสระเป็นสารตัวกลางที่สำคัญในขบวนการอักเสบ และเมื่อทำปฏิกิริยากับเกล็ดเลือด (platelet) เซลล์แมคโครฟาจ (macrophage) เซลล์นิวโทรฟิล (neutrophil) และเซลล์อื่นๆ แล้วสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการสังเคราะห์สารไอโคซานอยด์ (eicosanoid) กระตุ้นการหลั่งไซโตไคน์ (cytokine) หลายชนิด มีผลทำให้เกิดการลุกลามการอักเสบของอวัยวะหนึ่งไปสู่อีกอวัยวะ ทำให้เกิดความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน และทำให้การทำงานของอวัยวะต่างๆ ล้มเหลว (Porter *et al.*, 1995) การสร้างอนุมูลอิสระในเซลล์สัตว์ทดลองโดย CYP2E1 ในภาวะอดอาหารหรือเมื่อดมยาสลบด้วยอีเธอร์ จะทำให้เกิดภาวะเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันในเนื้อเยื่อ ทำให้ระดับกลูตาไธโอนลดลง และหากมีการทดแทนของกลูตาไธโอนจะสามารถป้องกันภาวะเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน และภาวะการบาดเจ็บของเนื้อเยื่อ (Lin *et al.*, 2004) ขบวนการอักเสบที่มีสารอนุมูลอิสระเป็นสารตัวกลาง เกี่ยวข้องกับพยาธิสภาพของโรคติดเชื้อต่างๆ รวมทั้งวัณโรคและ septic shock (Wyllie *et al.*, 1980) โรคภาวะภูมิคุ้มกันต่อต้านตัวเองลดลง (autoimmune disease) เช่น โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ โรคกล้ามเนื้ออักเสบ (Wang *et al.*, 1998) โรคมะเร็ง หลอดเลือดตีตัน ตับอักเสบ โรคเอดส์ และความจำเสื่อม (Ames *et al.*, 1993; Halliwell, 1996)

ออกซิเจนที่ถูกกระตุ้นจะทำให้เกิดอนุมูลอิสระ เช่น การเปลี่ยนแปลงไอออน การโน้ม้นำทำให้เกิดรอยบนดีเอ็นเอ ที่เป็นสาเหตุของการกลายพันธุ์รวมถึงผลกระทบที่ทำให้เกิดการตายของสารพันธุกรรม ซึ่งลักษณะของดีเอ็นเอที่ถูกทำลายจะให้น้ำตาลและเบสที่เป็นตัวบ่งชี้ การแตกสลายของดีเอ็นเอจะให้สารสำคัญหลายชนิด เช่น 8-hydroxyguanine, hydroxymethyl urea, urea, thymine glycol, thymine และ adenine ring เป็นต้น และผลที่เกิดจากการเกิด cross linking ของดีเอ็นเอบนโปรตีนคือ hydroxyl radical ซึ่งจะยึด thymine-cysteine ติดกันระหว่างดีเอ็นเอและโปรตีนด้วยพันธะโควาเลนต์ หลังจากเกิด cross linking แล้วแยกโปรตีนออกจากดีเอ็นเอ พบว่าดีเอ็นเอมีขนาดใหญ่ขึ้นเล็กน้อยซึ่งอาจไปมีผลทำให้เกิดกระบวนการลอกรหัสพันธุกรรม (replication) และการถอดรหัสพันธุกรรม (transcription) ผิดปกติไป (Beckman and Ames, 1998; Burney *et al.*, 1999)

บทบาทของแทนินและเคอร์ซีตินในการลดระดับคอเลสเตอรอล

คอเลสเตอรอลเป็นไขมันที่มีความจำเป็นต่อร่างกาย เนื่องจากเป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ โดยทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์สเตียรอยด์ฮอร์โมน และกรดน้ำดี (Brown and Goldstein, 1986) คอเลสเตอรอลมีโครงสร้าง 2 แบบ คือ คอเลสเตอรอลในรูปอิสระ ซึ่งพบมากบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ และคอเลสเตอรอลเอสเทอร์ (cholesterol ester) ซึ่งพบมากในไลโปโปรตีนของเลือด คอเลสเตอรอลเอสเทอร์ประมาณครึ่งหนึ่งของร่างกายถูกสังเคราะห์ขึ้นเองโดยตับ ส่วนที่เหลือได้มาจากอาหาร (Feeley *et al.*, 1972) อาหารที่มีปริมาณของคอเลสเตอรอลและกรดไขมันอิ่มตัวสูง ได้แก่ ผลผลิตจากโคนม สุกกร และสัตว์ปีก (Schaefer, 2002) เนื่องจากอาหารประเภทไขมันอิ่มตัวจะมีผลไปเพิ่มระดับไลโปโปรตีนชนิดที่มีความหนาแน่นต่ำ (low density lipoprotein; LDL) ในเลือดสูงกว่าปกติ (Ross, 1986) ทำให้เกิดการสะสมไขมันในกระแสเลือด เสี่ยงต่อการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็งและเปราะมากขึ้น (Anderson and Garner, 1998) ดังนั้น การควบคุมปริมาณคอเลสเตอรอลจึงมีความสำคัญ เพราะช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ (ประภัสสรา, 2547) เนื่องจาก เคอร์ซีตินมีคุณสมบัติลดคอเลสเตอรอลในกระแสเลือดชนิดที่มีความหนาแน่นต่ำ ดังนั้น จึงสามารถป้องกันหลอดเลือดสมองอุดตัน (Arai *et al.*, 2000) จากการศึกษา พบว่า สารเคอร์ซีตินช่วยป้องกันหลอดเลือดแตก และช่วยในการทำงานของหลอดเลือดหัวใจ ดังนั้น การรับประทานอาหารที่มีเคอร์ซีตินเป็นองค์ประกอบจึงช่วยทำให้ระบบไหลเวียนโลหิตและการทำงานของหัวใจดีขึ้น (Knekt *et al.*, 2000) ขณะที่การศึกษาทางระบาดวิทยา พบว่า คนที่รับประทานสารดังกล่าวในปริมาณสูงจะมีอัตราเสี่ยง 1 ใน 3 ของคนที่ได้ในปริมาณต่ำ การได้รับในปริมาณมากกว่า 30 มิลลิกรัมต่อวัน จะช่วยลดความเสี่ยงจากการเกิดลมชักในระยะแรก (Arai *et al.*, 2000) Osman *et al.* (1998) ได้ศึกษาคุณสมบัติของเคอร์ซีตินในการป้องกันการเกิดลิ่มเลือดในสุนัขและลิง พบว่า เคอร์ซีตินจะยับยั้งการจับตัวของเกล็ดเลือด และทำหน้าที่เป็นตัวต่อต้านการเกิดลิ่มเลือดในหลอดเลือด และจากการศึกษาในกระต่าย ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีปริมาณเคอร์ซีตินสูงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ จะทำให้คอเลสเตอรอลที่มีความหนาแน่นต่ำลดลง และเพิ่มคอเลสเตอรอลที่มีความหนาแน่นสูง (high density lipoprotein) นอกจากนี้ ยังมีการสะสมของไขมันในเส้นเลือดต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (Mokrzycki *et al.*, 2000)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้เลี้ยงไก่ไข่

- 1.1 กรงตับไก่ไข่ แต่ละกรงมีขนาด 24X40X42 ลูกบาศก์เซนติเมตร จำนวน 120 กรง
- 1.2 ไก่ไข่เพศเมียสายพันธุ์ Hisex Brown ที่กำลังให้ผลผลิตไข่สูงสุด จำนวน 380 ตัว
- 1.3 ถังใส่อาหารทดลองประจำไก่ทดลองแต่ละตัว
- 1.4 เครื่องชั่ง
 - 1.4.1 เครื่องชั่งแบบตัวเลขขนาดชั่งได้สูงสุด 100 กิโลกรัม สำหรับชั่งน้ำหนักอาหาร ผลิตโดยบริษัท Digi โมเดล DI-28
 - 1.4.2 เครื่องชั่งไฟฟ้าขนาดชั่งได้สูงสุด 1,500 กรัม สำหรับชั่งน้ำหนักฟองไข่ ผลิตโดยบริษัท Digi โมเดล DS-671
- 1.5 อุปกรณ์ตรวจวัดคุณภาพไข่
 - 1.5.1 ไมโครมิเตอร์วัดความหนาของเปลือกไข่ ความละเอียดต่ำสุด 0.01 มิลลิเมตร ผลิตโดยบริษัท Mitutoyo โมเดล ID-C1012EBS
 - 1.5.2 พัดเทียบสีไข่ไก่ ซึ่งมีสีเข้มขึ้นตามลำดับจากเบอร์ 1 ถึง 15 ผลิตโดยบริษัท Roche
 - 1.5.3 เครื่องวัดความสูงไข่ขาวหรือ albumen height gauge ผลิตโดยบริษัท TSS (Technical Services and Supplies Ltd.), York, England

2. อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับการเก็บตัวอย่างเลือด

- 2.1 กระบอกฉีดขนาด 3 มิลลิลิตร
- 2.2 เฮพาริน (heparin)
- 2.3 microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
- 2.4 เข็มฉีดยาเบอร์ 23

3. สารสกัดหยาบจากภาควิชาเภสัชเวท และเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา โดยมีความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 30 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณสารเคอร์ซีดิน 1.17 เปอร์เซ็นต์ (จินดาพร และคณะ, 2548)

4. อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับวิเคราะห์คอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมา

- 4.1 เครื่องมือวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)
- 4.2 absorption cell
- 4.3 microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
- 4.4 เครื่องปั่น (vortex mixer)
- 4.5 ชุดตรวจสำเร็จรูป cholesterol liquid color with lipid clearing factor
- 4.6 ชุดตรวจสำเร็จรูป triglycerides liquicolor (Human, Germany)

5. อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับวิเคราะห์คอเลสเตอรอลในไข่แดง

- 5.1 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 5.2 water bath
- 5.3 Pasteur pipettes
- 5.4 หลอดทดลองขนาด 16x150 มิลลิเมตร พร้อมฝา
- 5.5 ขวดกั่นกลมขนาด 250 มิลลิเมตร
- 5.6 rotary evaporator
- 5.7 micropipette
- 5.8 hot air oven
- 5.9 เครื่อง gas chromatograph
- 5.10 สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์
- 5.11 dimethylformamide (DMF)
- 5.12 dimethyldichlorosilane (DMCS)
- 5.13 hexamethyldisilazane (HMDS)
- 5.14 trimethylchlorosilane (TMCS)
- 5.15 n-heptane
- 5.16 ethanol ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์
- 5.17 petroleum ether
- 5.18 methanol
- 5.19 isopropanol
- 5.20 สารละลายคอเลสเตอรอลมาตรฐาน (standard cholesterol solution)
- 5.21 สารละลาย 5 α -cholestane มาตรฐาน (internal standard 5 α -cholestane solution)

6. อุปกรณ์และสารเคมีการวิเคราะห์ malondialdehyde (MDA) โดยวิธี thiobarbituric acid (TBA) assay

- 6.1 หลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร
- 6.2 autopipette ขนาด 20, 200 และ 100 μ l
- 6.3 vortex mixer
- 6.4 cuvette quatze
- 6.5 spectrophotometer
- 6.6 2-thiobarbituric acid (TBA) จากบริษัท Sigma
- 6.7 n-butanol
- 6.8 hydrochloric acid
- 6.9 pyridine

7. อุปกรณ์และสารเคมีในการวัดค่าอัตราส่วนของเฮเทอโรฟิลล์ต่อลิมโฟไซต์ (H:L)

- 7.1 microscopic glass slide ขนาด 22x30 มิลลิเมตร
- 7.2 slide spreader
- 7.3 สีย้อม Wright-Giemsa
- 7.4 กล้องจุลทรรศน์ธรรมดา (light microscope)

8. อุปกรณ์และสารเคมีในการวัดความสามารถรวมของสารต้านอนุมูลอิสระในการรีดิวซ์เหล็กเฟอริกโดยวิธี ferric reducing ability of plasma (FRAP) assay

- 8.1 sodium acetate จากบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 8.2 TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) จากบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 8.3 hydrochloric acid (HCl)
- 8.4 ferric chloride จากบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 8.5 ferrous sulfate จากบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 8.6 ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

9. เครื่องผสมอาหาร

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) โดยใช้ไก่ไข่เพศเมียสายพันธุ์ Hisex Brown ที่กำลังให้ผลผลิตไข่สูงสุดมีอายุ 28 สัปดาห์ จำนวน 380 ตัว สุ่มสัตว์ทดลองออกเป็น 5 กลุ่มๆ ละ 4 ซ้ำๆ ละ 15 (กลุ่ม 1) และ 20 ตัว (กลุ่ม 2-5) จำนวน 5 กรงต่อซ้ำ โดยในกลุ่มที่ 1 ทำการเลี้ยงไก่ไข่จำนวน 3 ตัวต่อกรงหรือพื้นที่ต่อตัวเท่ากับ 320 ตร.ซม. และกลุ่มทดลองที่ 2-5 ทำการเหนี่ยวนำให้สัตว์เกิดความเครียดด้วยการเลี้ยงไก่จำนวน 4 ตัวต่อกรงหรือพื้นที่ต่อตัวเท่ากับ 240 ตร.ซม. ทำการสุ่มสัตว์ทดลองแต่ละกลุ่มให้ได้รับอาหารทดลองดังต่อไปนี้เพียงสูตรเดียว

กลุ่มที่ 1	อาหารควบคุม พื้นที่การเลี้ยง 320 ตารางเซนติเมตรต่อตัว	
กลุ่มที่ 2	อาหารควบคุม พื้นที่การเลี้ยง 240 ตารางเซนติเมตรต่อตัว	
กลุ่มที่ 3	อาหารควบคุมเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาดจากใบฝรั่งระดับ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อาหารและใช้พื้นที่การเลี้ยง 240 ตารางเซนติเมตร	10
กลุ่มที่ 4	อาหารควบคุมเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาดจากใบฝรั่งระดับ 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อาหารและใช้พื้นที่การเลี้ยง 240 ตารางเซนติเมตร	20
กลุ่มที่ 5	อาหารควบคุมเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาดจากใบฝรั่งระดับ 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อาหารและใช้พื้นที่การเลี้ยง 240 ตารางเซนติเมตร	30

อาหารควบคุมเป็นอาหารสำเร็จรูปทางการค้าที่มีระดับโปรตีน 17 เปอร์เซ็นต์ และพลังงานใช้ประโยชน์ได้ 2,750 กิโลแคลอรีต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ตลอดการทดลองไก่ไข่ได้รับอาหารแบบกินเต็มที่ (*ad libitum*) เหมือนกันทุกกลุ่มทดลอง มีน้ำสะอาดให้กินตลอดเวลาและได้รับแสงวันละ 16 ชั่วโมง

การบันทึกข้อมูล

- การบันทึกผลการทดลองแบ่งออกเป็น 8 ช่วงๆ ละ 14 วัน โดยมีการบันทึกข้อมูลดังนี้
 - บันทึกน้ำหนักตัวไก่เมื่อเริ่มต้น
 - บันทึกปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ยในแต่ละซ้ำ
 - บันทึกผลผลิตไข่แต่ละซ้ำทุกวัน
 - บันทึกน้ำหนักไข่แต่ละซ้ำทุกวัน

1.5 บันทึกจำนวนไข่ตายในแต่ละช่วง

นำค่าต่าง ๆ ที่บันทึกไว้มาคำนวณหาค่าต่างๆ (North and Bell, 1990) ได้แก่ ปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวัน ปริมาณอาหารที่กินต่อการผลิตไข่ 1 กิโลกรัม เปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่ (hen-house production) และน้ำหนักไข่เฉลี่ยต่อฟอง โดยใช้สูตรการคำนวณดังนี้

$$\text{ปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวัน} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่กินในแต่ละช่วงการทดลอง (กรัม)}}{\text{จำนวนวัน} \times \text{จำนวนไข่เมื่อสิ้นสุดช่วงการทดลอง}}$$

$$\text{ปริมาณอาหารที่กินต่อน้ำหนักไข่ 1 กก.} = \frac{\text{ปริมาณอาหารที่กินในช่วงการทดลอง(กก.)}}{\text{น้ำหนักไข่ในแต่ละช่วงการทดลอง (กก.)}}$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่} = \left\{ \frac{\text{จำนวนไข่ในแต่ละช่วงการทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนวัน} \times \text{จำนวนไข่เริ่มต้นการทดลอง}} \right\}$$

$$\text{น้ำหนักไข่เฉลี่ยต่อฟอง} = \frac{\text{น้ำหนักไข่ทั้งหมดของไข่ในแต่ละช่วงการทดลอง}}{\text{จำนวนไข่ทั้งหมดของไข่ที่นำมาชั่ง}}$$

2. เก็บข้อมูลคุณภาพไข่ทุกๆ 14 วัน โดยสุ่มไข่เข้าละ 7 ฟองเพื่อวัดส่วนประกอบฟองไข่ อาทิ น้ำหนักไข่แดง ไข่ขาว และเปลือกไข่ ตามวิธีของ Lee and Choi (1985) และสุ่มไข่เข้าละ 5 ฟอง เพื่อวัด

2.1 สีของไข่แดง โดยใช้ egg yolk color fan

2.2 ความสูงไข่ขาว โดยใช้ albumen height gauge

2.3 ความหนาของเปลือกไข่ โดยใช้ไมโครมิเตอร์ (micrometer)

3. สุ่มเก็บตัวอย่างเลือดไก่เข้าละ 5 ตัว เมื่อเริ่มต้นการทดลอง และเมื่ออายุครบ 5 10 และ 15 สัปดาห์ของการทดลอง โดยเจาะเลือดไก่จากเส้นเลือดดำบริเวณปีก (wing vein) ตัวละ 2 มิลลิเมตรเพื่อ

3.1 ตรวจวัดสัดส่วนของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลล์และลิมโฟไซต์ โดยสเมียร์เลือดลงบนสไลด์ ย้อมสีด้วย Wright-Giemsa ทำตัวอย่างละ 2 ซ้ำ นำไปดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 100 เท่า บันทึกอัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลล์ต่อลิมโฟไซต์ (Gross and Siegel, 1983)

3.2 เตรียมพลาสมา โดยการนำเลือดไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 7,550g เป็นเวลา 5 นาที แยกเก็บตัวอย่างพลาสมาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส สำหรับนำไปวิเคราะห์คอเลสเตอรอลด้วยชุดตรวจสำเร็จรูป cholesterol liquid color (Human, Germany) วิเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ด้วยชุดตรวจสำเร็จรูป triglycerides liquicolor (Human, Germany) วิเคราะห์การเกิดปฏิกิริยาไลปิดเปอร์ออกซิเดชันในรูปของค่า thiobarbituric reactive substance (TBARs) ตามวิธีการของ Sinnhuber *et. al* (1958) และค่าความสามารถรวมของสารต้านอนุมูลอิสระในการรีดิวซ์เหล็กเฟอริก (total antioxidant capacity: TAC) ตามวิธีการของ Fernandez-Pachon *et. al.* (2005) รายละเอียดการวิเคราะห์ทางเคมีทั้งหมดได้แสดงไว้ในภาคผนวก ข.

4. สุ่มเก็บตัวอย่างไข่แดงไข่ละ 3 ฟอง เมื่อครบสัปดาห์ที่ 2 8 และ 16 ของการทดลองเพื่อวิเคราะห์หาระดับคอเลสเตอรอลอ้างอิงตามวิธีของ Will and Greenfield (1984) ปรับปรุงโดยวิธีการของฝ่ายเคมีอาหาร สถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล ด้วยเครื่อง gas chromatograph รายละเอียดการวิเคราะห์คอเลสเตอรอลในไข่แดงได้แสดงไว้ในภาคผนวก ข.

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; Snedecor and Cochran, 1967) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่ม โดยวิธี Duncan's new multiple range test (Duncan, 1955) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SAS (SAS, 1996) โดยมีแบบหุ่นจำลองทางสถิติ ดังนี้

$$\begin{aligned}
 Y_{ij} &= \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \quad , i = 1, 2, 3, 4 \text{ และ } 5; j = 1, 2, 3 \text{ และ } 4 \\
 \text{เมื่อ } Y_{ij} &= \text{ค่าสังเกตของแต่ละทรีทเมนต์ที่ } i \text{ ซ้ำที่ } j \text{ (} j = 1, 2, 3 \text{ และ } 4) \\
 \mu &= \text{ค่าเฉลี่ยร่วมของทรีทเมนต์} \\
 \tau_i &= \text{อิทธิพลเนื่องจากทรีทเมนต์ที่ } i \text{ (} i = 1, 2, 3, 4 \text{ และ } 5) \\
 \varepsilon_{ij} &= \text{ค่าความคลาดเคลื่อนของการทดลอง}
 \end{aligned}$$

สถานที่และระยะเวลาทำการทดลอง

1. สถานที่

1.1 ทำการเลี้ยงสัตว์ทดลอง วัดคุณภาพไข่ องค์ประกอบฟองไข่ และตรวจวัดจำนวนของสัดส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลล์และลิมโฟไซต์ ที่ฟาร์มไก่หลวงสุวรรณวาทกสิกิจ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ

1.2 ตรวจวัดค่าคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ ค่าความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการต้านอนุมูลอิสระ และการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชันที่ห้องปฏิบัติการภาควิชา สรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ

1.3 วิเคราะห์คอเลสเตอรอลในไข่แดงที่ห้องปฏิบัติการฝ่ายเครื่องมือวิทยาศาสตร์กลาง สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กรุงเทพฯ

2. ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มการทดลอง : วันที่ 23 ธันวาคม 2551

สิ้นสุดการทดลอง : วันที่ 14 เมษายน 2552

ผลการทดลองและวิจารณ์

การเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งระดับ 0 10 20 และ 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารต่อสมรรถภาพทางการให้ผลผลิตไข่ คุณภาพไข่ ระดับคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ ค่าสัดส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮโมโทฟิลล์และลิมโฟไซต์ ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระรวม และการเกิดปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของไขมันของไก่ไข่ที่เลี้ยงในสภาพหนาแน่นกว่าปกติเปรียบเทียบกับเลี้ยงในสภาพความหนาแน่นปกติได้ผลการทดลองดังนี้

1. ผลของการเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่

การเพิ่มความหนาแน่นในการเลี้ยงไก่ไข่จาก 3 ตัว/กรง เป็น 4 ตัว/กรง มีผลต่อปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ยต่อวัน ปริมาณอาหารที่ใช้ในการผลิตไข่ 1 กิโลกรัม ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวัน และปริมาณอาหารที่กินต่อผลผลิตไข่ 1 กิโลกรัม ของไก่ไข่ช่วงอายุ 28-44 สัปดาห์

กลุ่มทดลอง	ปริมาณอาหารที่กิน (กรัม/ตัว/วัน) ^{1/}	ปริมาณอาหาร ต่อผลผลิตไข่ ^{1/}
1. กลุ่มควบคุม (เลี้ยงไก่ 3 ตัว/กรง)	118.37±0.71	2.02±0.02
2. กลุ่มควบคุม (เลี้ยงไก่ 4 ตัว/กรง)	117.40±0.70	2.07±0.01
3. เสริมสารสกัดหยาบใบฝรั่ง 10 มก./กก.อาหาร (เลี้ยงไก่ 4 ตัว/กรง)	117.69±0.71	2.08±0.01
4. เสริมสารสกัดหยาบใบฝรั่ง 20 มก./กก.อาหาร (เลี้ยงไก่ 4 ตัว/กรง)	118.59±0.69	2.03±0.03
5. เสริมสารสกัดหยาบใบฝรั่ง 30 มก./กก.อาหาร (เลี้ยงไก่ 4 ตัว/กรง)	118.35±0.72	2.02±0.02

^{1/}ค่าเฉลี่ย ± SE ที่อยู่ในแนวตั้งเดียวกันไม่มีอักษรกำกับ มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

อย่างไรก็ตาม จะเห็นได้ว่าปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ยต่อวันของกลุ่มที่เลี้ยงในสภาพหนาแน่น มีค่าต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ นอกจากนี้ การเลี้ยงในสภาพหนาแน่นมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเลี้ยงรอดของแม่ไก่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว และเปอร์เซ็นต์การเลี้ยงรอด ของไก่ไข่ช่วงอายุ 28-44 สัปดาห์

กลุ่มทดลองที่	การเปลี่ยนแปลง น้ำหนักตัว (กก.)	การเลี้ยงรอด (%)*
1. กลุ่มควบคุม (เลี้ยงไก่ 3 ตัว/กรง)	0.01±0.02	100.00±0.17 ^a
2. กลุ่มควบคุม (เลี้ยงไก่ 4 ตัว/กรง)	0.03±0.01	98.91±0.17 ^b
3. เสริมสารสกัดหยาบใบฝรั่ง 10 มก./กก.อาหาร (เลี้ยงไก่ 4 ตัว/กรง)	0.04±0.00	100.00±0.17 ^a
4. เสริมสารสกัดหยาบใบฝรั่ง 20 มก./กก.อาหาร (เลี้ยงไก่ 4 ตัว/กรง)	0.04±0.03	100.00±0.17 ^a
5. เสริมสารสกัดหยาบใบฝรั่ง 30 มก./กก.อาหาร (เลี้ยงไก่ 4 ตัว/กรง)	0.05±0.01	100.00±0.17 ^a

*ค่าเฉลี่ย ± SE ที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

ทั้งนี้เนื่องจากการเพิ่มความหนาแน่นในการเลี้ยงส่งผลต่อพฤติกรรมของไก่ สัตว์จะมีการจิกชนและการจัดลำดับทางสังคมเช่นการขับไล่ตัวอื่นออกจากรางอาหาร หรือการแก่งแย่งกันในการกินอาหารมากขึ้น (Blokhuys, 1994) ส่งผลให้สัตว์เกิดภาวะเครียดซึ่งจะกระตุ้นการหลั่งของฮอร์โมนคอร์ติโคสเตียรอยด์ (corticosteroid hormone) ไปมีผลยับยั้งการกินอาหารของสัตว์ (Cattanach *et al.*, 1988) และส่งผลต่อเนื่องต่อผลผลิตไข่ทั้งในด้านปริมาณการไข่และเปอร์เซ็นต์การเลี้ยงรอด อย่างไรก็ตามการเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งสามารถช่วยเพิ่มปริมาณอาหารที่กินและลดอัตราการตายของแม่ไก่ได้โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้ในระดับ 20-30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ทั้งนี้เนื่องจากสารเคอร์ซีตินและสารกลุ่มฟลาโวนอล (flavonol) จากผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี (Jimenez-Escrig *et al.*, 2001) โดยทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในภาวะความเครียด จึงช่วยลด

ผลกระทบที่เกิดขึ้นทั้งในด้านสุขภาพและการให้ผลผลิตของสัตว์ (Heckert *et al.*, 2002) นอกจากนี้ สารอาหารต่างๆ ที่สัตว์กินเข้าไปในร่างกายจะสามารถใช้ประโยชน์ได้ก็ต่อเมื่อร่างกายสามารถย่อยและดูดซึมสารอาหารได้ ส่วนใหญ่แล้วสารอาหารต่างๆ จะถูกดูดซึมที่บริเวณลำไส้เล็ก เนื่องจาก เป็นบริเวณที่เหมาะสมต่อการดูดซึมสารอาหาร โดยมีส่วนที่ยื่นเข้าไปในท่อทางเดินอาหารลักษณะคล้ายนิ้วมือ เรียกว่า วิลไล (villi) ซึ่งเพิ่มพื้นที่ในการสัมผัสอาหาร (Uni *et al.*, 1999) เบญญาภา และคณะ (2550) รายงานว่า การเสริมไบโพรังผงระดับ 1.2 เปอร์เซ็นต์ สามารถทำให้ความสูงของวิลไลเพิ่มขึ้นเป็น 1,299 ไมโครเมตรเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีความสูงของวิลไลเท่ากับ 998.61 ไมโครเมตร ความสูงของวิลไลที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ร่างกายมีประสิทธิภาพในการดูดซึมสารอาหารนำไปใช้ประโยชน์มากขึ้น (ชัยวัฒน์, 2541) ผลการทดลองสอดคล้องกับ นพดล และคณะ (2549) ซึ่งรายงานว่าการเสริมไบโพรังผง 0.1 เปอร์เซ็นต์ของสูตรอาหารไก่ไข่สามารถช่วยปรับปรุงเปอร์เซ็นต์การให้ผลผลิตไข่ของแม่ไก่เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้กระเทียมผงและสมุนไพรผสม

แม้ว่าผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากไบโพรังจะมีองค์ประกอบของสารแทนนินซึ่งมีบทบาทในการขัดขวางการใช้ประโยชน์ของสารอาหาร โดยแทนนินจะขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ trypsin, α -amylase และ proteinase (Eggum *et al.*, 1982) ทำให้สัตว์ได้รับสารอาหารเพื่อการสร้างผลผลิตลดลง แต่การจากการทดลองนี้พบว่าการใช้ผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากไบโพรังในระดับ 10-30 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหารไม่มีผลกระทบต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่แต่อย่างใด เนื่องจากเป็นระดับการใช้ที่ต่ำจึงไม่กระทบต่อปริมาณสารอาหารในสูตรอาหาร ตลอดจนกระบวนการย่อยและการดูดซึมสารอาหารภายในร่างกายของสัตว์ อีกทั้งไม่จำเป็นต้องมีการปรับสูตรอาหารซึ่งเป็นข้อดีของการใช้ผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรในรูปแบบของสารสกัดหยาบ

2. ผลของการเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากไบโพรังในอาหารไก่ไข่ต่อคุณภาพไข่

ผลการเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากไบโพรังในอาหารต่อคุณภาพไข่ของแม่ไก่ที่เลี้ยงในสภาพหนาแน่นกว่าปกติ พบว่าการเลี้ยงไก่ในสภาพหนาแน่นส่งผลให้น้ำหนักของฟองไข่และเปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับผลผลิตของแม่ไก่ที่เลี้ยงในสภาพหนาแน่นปกติ (ตารางที่ 3) ทั้งนี้เนื่องจากภาวะความเครียดที่เกิดจากการเลี้ยงในสภาพหนาแน่นส่งผลต่อปริมาณอาหารที่กินของสัตว์รวมทั้งประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ของสารอาหารที่ลดลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งโปรตีนและพลังงานจากอาหาร ซึ่งเป็น

ตัวกำหนดสมรรถภาพการผลิต ตลอดจนมีผลต่อผลผลิตไข่ และน้ำหนักไข่อย่างชัดเจน (Gous and Kley, 1989; Austic and Nesheim, 1990) เนื่องจากอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นมากในภาวะที่สัตว์เกิดความเครียดจะสามารถไปทำลายเนื้อเยื่อบริเวณลำไส้ ทำให้การดูดซึมสารอาหารลดลง ส่งผลให้ร่างกายได้รับโปรตีนและพลังงานลดลง ซึ่งน้ำหนักฟองไข่ของสัตว์ปีกนั้นจะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับระดับของโปรตีน ไขมัน และพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ที่สัตว์ได้รับจากอาหาร (Gardner and Young, 1972) การเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งในระดับ 20-30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร สามารถช่วยลดผลกระทบดังกล่าวได้ โดยจะเห็นได้ว่าน้ำหนักฟองไข่ของแม่ไก่จากกลุ่มที่ได้รับการเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งมีค่าเพิ่มขึ้นและมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่เลี้ยงในสภาพหนาแน่นปกติอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่ (hen-house production) และน้ำหนักไข่ ของไก่ไข่ช่วงอายุ 28-44 สัปดาห์

กลุ่มทดลอง	Hen-house (%)**	น้ำหนักไข่ (กรัม/ฟอง)**
1. กลุ่มควบคุม (เลี้ยง 3 ตัว/กรง)	91.40±0.82 ^{ab}	64.39±0.35 ^a
2. กลุ่มควบคุม (เลี้ยง 4 ตัวต่อกรง)	89.55±0.82 ^b	63.43±0.35 ^b
3. เสริมสารสกัดหยาบใบฝรั่ง 10 มก./กก.อาหาร (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	89.85±0.82 ^{ab}	63.43±0.35 ^b
4. เสริมสารสกัดหยาบใบฝรั่ง 20 มก./กก.อาหาร (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	91.78±0.82 ^{ab}	63.92±0.37 ^a
5. เสริมสารสกัดหยาบใบฝรั่ง 30 มก./กก.อาหาร (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	92.31±0.82 ^a	63.75±0.33 ^{ab}

**/ค่าเฉลี่ย ± SE ที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในแต่ละแถว มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

จากการทดลองพบว่า การเลี้ยงไก่ไข่ในสภาพหนาแน่นกว่าปกติมีผลต่อคุณภาพไข่ในด้านอื่นๆ เช่น ค่าสอฟูนิต สีของไข่แดง (ตารางที่ 4) ความหนาของเปลือกไข่ (ตารางที่ 5) และองค์ประกอบของฟองไข่ทั้งสัดส่วนของไข่ขาว ไข่แดง เปลือกไข่ (ตารางที่ 5 และ 6) อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับ การเลี้ยงไก่ไข่ในสภาพหนาแน่นปกติ

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยฮอฟูนิต และสีไข่แดง ของไข่ช่วงอายุ 28-44 สัปดาห์

กลุ่มทดลอง	ค่าฮอฟูนิต ^{1/}	สีไข่แดง ^{1/}
1. กลุ่มควบคุม (เลี้ยง 3 ตัว/กรง)	94.32±0.88	7.66±0.08
2. กลุ่มควบคุม (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	93.41±0.85	7.63±0.07
3. เสริมสารสกัดหยาบใบฝรั่ง 10 มก./กก.อาหาร (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	93.40±0.88	7.68±0.07
4. เสริมสารสกัดหยาบใบฝรั่ง 20 มก./กก.อาหาร (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	93.21±0.79	7.77±0.06
5. เสริมสารสกัดหยาบใบฝรั่ง 30 มก./กก.อาหาร (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	94.17±0.86	7.66±0.05

^{1/}ค่าเฉลี่ย ± SE ที่อยู่ในแนวตั้งเดียวกันไม่มีอักษรกำกับ มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยความหนาเปลือกไข่ และเปอร์เซ็นต์ไข่แดง ของไข่ช่วงอายุ 28-44 สัปดาห์

กลุ่มทดลอง	ความหนาเปลือกไข่ (มม.) ^{1/}	ไข่แดง (%) ^{1/}
1. กลุ่มควบคุม (เลี้ยง 3 ตัว/กรง)	0.385±0.00	24.44±0.18
2. กลุ่มควบคุม (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	0.389±0.01	24.57±0.18
3. เสริมสารสกัดหยาบใบฝรั่ง 10 มก./กก.อาหาร (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	0.390±0.03	24.37±0.18
4. เสริมสารสกัดหยาบใบฝรั่ง 20 มก./กก.อาหาร (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	0.392±0.02	24.43±0.18
5. เสริมสารสกัดหยาบใบฝรั่ง 30 มก./กก.อาหาร (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	0.385±0.01	24.41±0.18

^{1/}ค่าเฉลี่ย ± SE ที่อยู่ในแนวตั้งเดียวกันไม่มีอักษรกำกับ มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ส่วนประกอบของไข่ขาว และเปลือกไข่ ของไก่ไข่ช่วงอายุ 28-44 สัปดาห์

กลุ่มทดลอง	ไข่ขาว (%) ^{1/}	เปลือกไข่ (%) ^{1/}
1. กลุ่มควบคุม (เลี้ยง 3 ตัว/กรง)	66.30±0.17	9.26±0.07
2. กลุ่มควบคุม (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	66.12±0.17	9.31±0.07
3. เสริมสารสกัดหยาบใบฝรั่ง 10 มก./กก.อาหาร (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	66.28±0.17	9.35±0.07
4. เสริมสารสกัดหยาบใบฝรั่ง 20 มก./กก.อาหาร (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	66.19±0.17	9.38±0.07
5. เสริมสารสกัดหยาบใบฝรั่ง 30 มก./กก.อาหาร (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	66.39±0.17	9.20±0.07

^{1/}ค่าเฉลี่ย ± SE ที่อยู่ในแนวตั้งเดียวกันไม่มีอักษรกำกับ มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

ทั้งนี้เนื่องจากสัตว์ทดลองได้รับสูตรอาหารเดียวกัน จึงได้รับโภชนาการต่างๆใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าค่าฮอฟฟีนิตซึ่งเป็นค่าที่ใช้บ่งบอก “ความสด” ของไข่ ของกลุ่มที่เลี้ยงในสภาพหนาแน่นกว่าปกติมีแนวโน้มต่ำกว่าการเลี้ยงในสภาพความหนาแน่นปกติ แม้ว่าความแตกต่างจะไม่มีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม ทั้งนี้ปัจจัยที่มีผลต่อค่าความสูงของไข่ขาวและค่าฮอฟฟีนิต คือ อายุ อุณหภูมิสภาพแวดล้อม สายพันธุ์ วิธีการจัดการเก็บไข่และสุขภาพของแม่ไก่ (North and Bell, 1990) การเลี้ยงไก่ในสภาพหนาแน่นทำให้อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นไปมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโปรตีน (Grune *et al.*, 1997) ซึ่งนำไปสู่การดัดแปลงหน้าที่ของโปรตีน คุณสมบัติทางเคมี หรือเพิ่มความไวต่อการสลายโปรตีน โดยจะเพิ่มขึ้นหลังจากมีการสร้างอนุมูลอิสระชนิดซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน หรือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Wolff *et al.*, 1986; Davies *et al.*, 1987; Stadtman, 1993) การเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งในระดับ 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารสามารถช่วยให้ค่าฮอฟฟีนิตเพิ่มขึ้น และมีค่าใกล้เคียงกับกลุ่มที่เลี้ยงในสภาพหนาแน่นปกติ (94.17 vs 94.32) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการใช้สารสกัดหยาบใบฝรั่งซึ่งมีสารต้านอนุมูลอิสระ จึงสามารถช่วยลดความสูญเสียของโปรตีนในไข่ขาวได้ ส่งผลต่อการคงรูปของไข่ขาวขึ้นซึ่งมีส่วนของ ovomucin glycoprotein เป็นองค์ประกอบมากกว่าไข่ขาวบางถึง 4 เท่า

(Powrie and Nakai, 1986; Robinson, 1987) สอดคล้องกับ Austic (1977) ที่รายงานว่า ไข่ไก่คุณภาพดีจะมีส่วนของโอโวมิวซินสูง

3. ผลของการเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งต่อระดับคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมา

คอเลสเตอรอลทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ฮอร์โมน สเตอรอยด์ วิตามินดี และกรดน้ำดี ซึ่งมีความสำคัญในเมแทบอลิซึมของไขมันในร่างกาย นอกจากนี้ยังเป็นองค์ประกอบของไลโปโปรตีนชนิดต่างๆ เชื้อหุ้มเซลล์ของร่างกาย (บุญล้อม, 2546; Brown and Goldstein, 1986) โดยปกติระดับคอเลสเตอรอลในเลือดไก่ไข่มีค่าผันแปรระหว่าง 52-270 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (Wegner *et al.*, 1978) ขึ้นกับพันธุกรรม อาหาร และยาต่างๆ (Hargis, 1998) คอเลสเตอรอลประมาณครึ่งหนึ่งของร่างกายถูกสังเคราะห์ที่ตับ ส่วนที่เหลือได้มาจากอาหาร (Feeley *et al.*, 1972) อาหารที่มีส่วนประกอบของคอเลสเตอรอลและไขมันอิ่มตัวจำนวนมากได้แก่ ผลิตภัณฑ์จากโคนม สุกร และไก่ (Schaefer, 2002)

จากการทดลองพบว่าระดับคอเลสเตอรอลในพลาสมาของแม่ไก่มีค่าระหว่าง 99.90-157.82 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (ตารางที่ 7) การเลี้ยงไก่ในสภาพหนาแน่นกว่าปกติ (กลุ่มควบคุมที่ 2) ไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ต่อระดับของคอเลสเตอรอลในพลาสมาของแม่ไก่ แต่ในกรณีที่สัตว์ไม่ได้รับสารสกัดหยาบจากใบฝรั่ง (กลุ่มควบคุม 1 และ 2) จะมีระดับคอเลสเตอรอลในพลาสมามีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) เมื่อสัตว์มีอายุมากขึ้น ดังแสดงภาพที่ 6 การเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งในอาหารไก่ไข่ในระดับสูงขึ้นส่งผลให้ปริมาณคอเลสเตอรอลในพลาสมาลดลง โดยกลุ่มที่เสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งในระดับ 20 และ 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ทำให้ปริมาณคอเลสเตอรอลในพลาสมาลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) ทั้งในสัปดาห์ที่ 5 10 และ 15 ของการทดลอง เมื่อระยะเวลาการทดลองนานขึ้นจะเห็นว่ากลุ่มควบคุมที่เลี้ยงหนาแน่นปกติ (กลุ่ม 1) มีแนวโน้มทำให้คอเลสเตอรอลในพลาสมาเพิ่มขึ้นประมาณ 8.227 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร แต่กลุ่มที่เสริมด้วยผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งระดับ 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีผลทำให้คอเลสเตอรอลในพลาสมาลดลงประมาณ 9.823 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (ภาพที่ 6) ทั้งนี้เป็นเพราะคุณสมบัติในการยับยั้งการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลของสารแทนนินและเคอร์ซีตินจากผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่ง โดยมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการสังเคราะห์

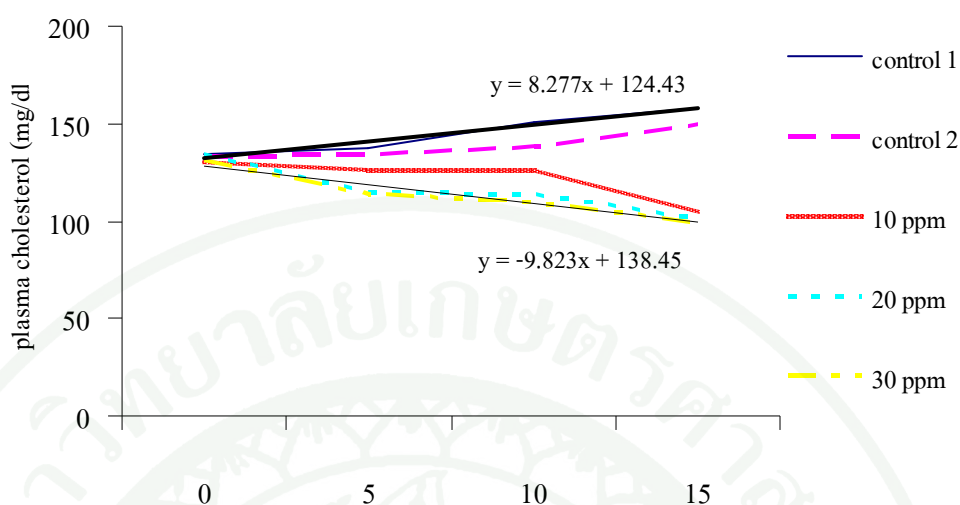
คอเลสเทอรอล คือ 3-hydroxy-3-methyl glutaryl coenzymeA reductase (HMG-CoA reductase) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาขั้นจำกัดความเร็ว (rate-limiting step) ของการสังเคราะห์คอเลสเทอรอลในไก่ไข่ ยับยั้งได้ถึง 75 เปอร์เซ็นต์ และ cholesterol 7 α -hydroxylase, fatty acid synthetase และ glucose-6-phosphate dehydrogenase (Qureshi *et al.*, 1983)

ตารางที่ 7 ค่าเฉลี่ยระดับคอเลสเทอรอลในพลาสมา (หน่วย: มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)

กลุ่มทดลอง	สัปดาห์ของการทดลอง*			
	0	5	10	15
1. กลุ่มควบคุม (เลี้ยง 3 ตัว/กรง)	134.81 $\pm$ 11.86	137.05 $\pm$ 6.74 ^a	150.79 $\pm$ 4.71 ^a	157.82 $\pm$ 5.31 ^a
2. กลุ่มควบคุม (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	133.55 $\pm$ 10.99	134.34 $\pm$ 6.70 ^{ab}	138.77 $\pm$ 4.68 ^{ab}	149.25 $\pm$ 4.99 ^a
3. เสริมสารสกัดหยาบใบ ฝรั่ง 10 มก./กก.อาหาร	130.45 $\pm$ 11.89	126.09 $\pm$ 6.74 ^{ab}	125.66 $\pm$ 4.70 ^{bcd}	104.54 $\pm$ 5.22 ^b
4. เสริมสารสกัดหยาบใบ ฝรั่ง 20 มก./กก.อาหาร	133.85 $\pm$ 11.86	114.51 $\pm$ 6.71 ^b	114.15 $\pm$ 4.71 ^{cd}	101.66 $\pm$ 5.30 ^b
5. เสริมสารสกัดหยาบใบ ฝรั่ง 30 มก./กก.อาหาร	131.34 $\pm$ 11.80	114.12 $\pm$ 6.74 ^b	110.21 $\pm$ 4.87 ^d	99.90 $\pm$ 5.31 ^b

*ค่าเฉลี่ย $\pm$ SE กำกับด้วยอักษรต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01)

แม้ว่าการเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งที่ระดับ 10-30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อาหาร มีผลทำให้ปริมาณคอเลสเทอรอลที่พบในเลือดลดลงตามระดับสารสกัดหยาบจากใบฝรั่ง ในอาหารก็ตาม แต่จะเห็นได้ว่าร่างกายของสัตว์จะมีการรักษาระดับของคอเลสเทอรอลในพลาสมาไว้ในระดับหนึ่ง (ภาพที่ 6) เพื่อให้ร่างกายสามารถทำงานตามปกติ สอดคล้องกับ Harris and Wilcox (1963) ที่รายงานว่าแม้ไก่ช่วงให้ผลผลิตไข่จะมีการรักษาระดับคอเลสเทอรอลในเลือดให้พอเหมาะ โดยจะจับคอเลสเทอรอลส่วนเกินไปสะสมไว้ที่ไข่แดง นอกจากนั้นร่างกายแม่ไก่สามารถจับคอเลสเทอรอลออกทางน้ำดีได้อีกทางหนึ่ง (Sutton *et al.*, 1984)



ภาพที่ 6 ระดับคอเลสเตอรอลในพลาสมาของแม่ไก่ที่อายุต่างๆ กัน

สำหรับผลของการเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่ง ต่อระดับไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมาเป็นไปในลักษณะเดียวกันกับระดับคอเลสเตอรอล เนื่องจากคอเลสเตอรอลมีความสัมพันธ์โดยตรงกับไลโปโปรตีนชนิด HDL และ LDL ตลอดจนไตรกลีเซอไรด์ ทั้งนี้ระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดบ่งบอกถึงการเคลื่อนย้ายไตรกลีเซอไรด์จากตับไปยังไขและเนื้อเยื่อไขมัน ดังตารางที่ 8

จะเห็นได้ว่าระดับไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมาเมื่อเริ่มต้นทดลองมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติในระหว่างกลุ่มทดลอง ($P>0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยที่ 371.07 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ซึ่งค่าที่ได้จากการทดลองนี้มีค่าต่ำกว่าระดับไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมาของแม่ไก่ไข่ ในระยะเริ่มให้ผลผลิตที่รายงานโดย Kudzma *et al.* (1979) ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 524 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ความแตกต่างที่เกิดขึ้นอาจมีปัจจัยมาจากความแตกต่างของสายพันธุ์ อาหารที่ได้รับและระยะเวลาให้ผลผลิตของสัตว์ (Hargis, 1998) นอกจากนี้ ระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดไก่ไข่มีความผันแปรสูง ถึงแม้จะเป็นไก่พันธุ์เดียวกันและได้รับอาหารเหมือนกันโดยสามารถผันแปรได้ระหว่าง 52-5,754 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (Wegner *et al.*, 1978) โดยจะเห็นได้ว่าระดับไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมาของไก่ไข่ในการทดลองนี้มีค่าสูงขึ้น เมื่อระยะเวลาการให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นในทุกกลุ่มทดลอง

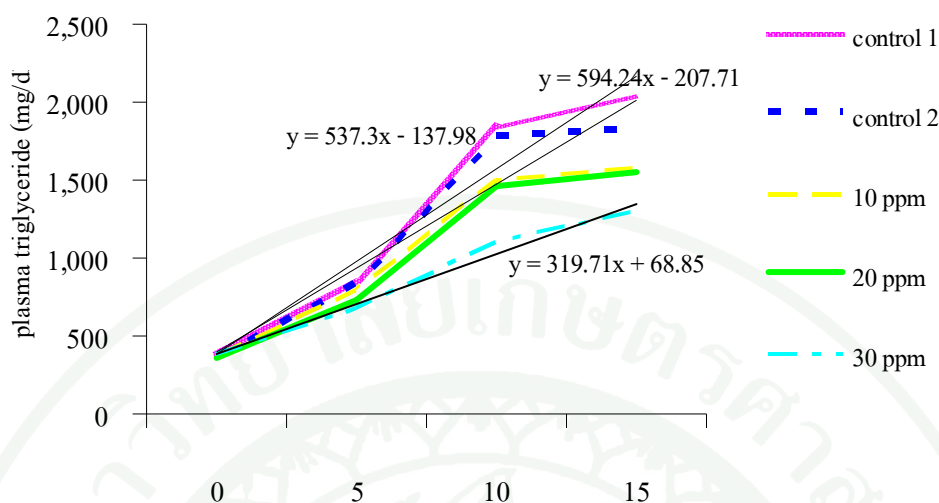
ตารางที่ 8 ค่าเฉลี่ยไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมา (หน่วย: มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)

กลุ่มทดลอง	สัปดาห์ของการทดลอง			
	0	5*	10*	15**
1. กลุ่มควบคุม (เลี้ยง 3 ตัว/กรง)	379.81±43.5 7	859.81±49.62 ^a	1,837.11±52.69 ^a	2,034.85±56.56 ^A
2. กลุ่มควบคุม (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	362.05±53.1 9	837.05±64.29 ^a	1,784.92±37.49 ^a	1,837.10±37.49 ^{AB}
3. เสริมสารสกัดหยาบ 10 พีพีเอ็ม	375.79±45.9 4	800.79±59.21 ^{ab}	1,500.83±99.85 ^{ab}	1,582.84±34.98 ^{AB}
4. เสริมสารสกัดหยาบ 20 พีพีเอ็ม	357.82±80.4 0	729.89±54.13 ^c	1,457.84±52.54 ^{ab}	1,550.08±48.86 ^{AB}
5. เสริมสารสกัดหยาบ 30 พีพีเอ็ม	379.89±84.4 2	682.82±63.36 ^{bc}	1,104.91±75.61 ^b	1,304.90±40.97 ^B

*ค่าเฉลี่ย ± SE ที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01)

**ค่าเฉลี่ย ± SE ที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ผลการเลี้ยงไก่ในสภาพหนาแน่นกว่าปกติ (กลุ่ม 2) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ต่อระดับไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมาของแม่ไก่ในแต่ละช่วงอายุของการทดลอง แต่การเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งในระดับ 10-30 มิลลิกรัมต่อกิโกรัมอาหารในระยะเวลาการเลี้ยงที่นานขึ้น ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) ต่อระดับไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมา โดยการเพิ่มระดับการใช้ผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งในอาหาร 30 มิลลิกรัมต่อกิโกรัมอาหารมีผลในการเพิ่มระดับไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมาประมาณ 319.71 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (ภาพที่ 7) ขณะที่กลุ่มควบคุมทั้งสอง (กลุ่ม 1 และ 2) มีระดับไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมาเพิ่มขึ้นประมาณ 549.24 และ 537.30 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 ระดับไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมาของแม่ไก่ที่อายุต่างๆ กัน

เนื่องจากคุณสมบัติของสารสกัดหยาบด้วยเอธานอลของใบฝรั่ง ซึ่งมีสารเคอร์ซีตินเป็นองค์ประกอบมีผลไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase ในกระบวนการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล อีกทั้งสารแทนนินจากใบฝรั่งจะลดการดูดซึมไขมันจากลำไส้เล็กทำให้ไตรกลีเซอไรด์จากอาหารเข้าสู่กระแสเลือดลดลง สอดคล้องกับ Ong *et al.* (1995) ที่รายงานว่าไฮโดรไลซ์เอเบิลแทนนิน (hydrolysable tannin) ที่มีคุณสมบัติในการลดคอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ ยับยั้งการสร้างไขมันโดยผ่านทางฮอร์โมนอินซูลิน (insulin)

4. ผลของผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งต่อระดับคอเลสเตอรอลในไข่แดง

ไข่ไก่เป็นแหล่งของสารอาหารที่ดีสำหรับผู้บริโภค แต่ผู้บริโภคไข่มักมีความกังวลเกี่ยวกับระดับของคอเลสเตอรอลที่มีค่าสูงในไข่แดง โดยในไข่ไก่ 1 ฟอง มีคอเลสเตอรอลเฉลี่ยเท่ากับ 213 มิลลิกรัม (บุญล้อม และบุญเสริม, 2542) แม้ว่าสารคอเลสเตอรอลเป็นสารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายโดยเป็นสารตั้งต้นของฮอร์โมนและสารชีวภาพที่สำคัญในร่างกายหลายชนิด (บุญล้อม, 2546) แต่การได้รับคอเลสเตอรอลจากอาหารมากเกินไป จะส่งผลทำให้ระดับคอเลสเตอรอลในเลือดสูงขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งคอเลสเตอรอลที่มีความหนาแน่นต่ำ (low density lipoprotein cholesterol: LDL cholesterol) ซึ่งทำให้เกิดการตกตะกอนตามผนังหลอดเลือดและเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจขาดเลือดเพิ่มขึ้น ด้วยเหตุนี้การผลิตไข่ที่มีคอเลสเตอรอลต่ำจึงเป็น

แนวทางหนึ่งในการเพิ่มการบริโภคไข่ แม้ไก่ที่กำลังให้ผลผลิตจะมีการขนส่งคอเลสเตอรอลทางเลือดเพื่อสะสมที่ไข่แดงสำหรับการเจริญเติบโตของตัวอ่อนในช่วงการฟัก (Murata *et al.*, 2003)

โดยปกติคอเลสเตอรอลที่พบในไข่แดงมาจากการสังเคราะห์ที่ตับประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ลำไส้ 15 เปอร์เซ็นต์ และที่เหลือจากแหล่งอื่นๆ เช่นผิวหนังและรังไข่ (Hargis, 1998) โดยเอนไซม์ 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase (HMG-CoA reductase) มีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล จากนั้นคอเลสเตอรอลที่สังเคราะห์ได้จะเคลื่อนย้ายไปในกระแสเลือดในรูปของไลโปโปรตีนและไปสะสมในฟองไข่ด้วยวิธี receptor-mediated endocytosis (Bartov *et al.*, 1971) จากผลการทดลองในตารางที่ 9 จะเห็นว่าการเลี้ยงไก่ในสภาพหนาแน่นกว่าปกติมีผลต่อระดับคอเลสเตอรอลในไข่แดง ($P<0.01$) ในสัปดาห์ที่ 15 ซึ่ง Hargis (1998) รายงานว่า ความสัมพันธ์ของระดับคอเลสเตอรอลในไข่แดงกับคอเลสเตอรอลในเลือดและในตับ ขึ้นอยู่กับการขนส่งคอเลสเตอรอลในรูปไลโปโปรตีนจากตับ โดย LDL-receptor ของเซลล์ไข่จะเป็นตัวควบคุมระดับคอเลสเตอรอลในไข่แดงให้อยู่ในภาวะสมดุลและเพียงพอกับความต้องการของตัวอ่อน

ตารางที่ 9 ค่าเฉลี่ยระดับคอเลสเตอรอลในไข่แดง (หน่วย: มิลลิกรัมต่อกรัมไข่แดง)

กลุ่มทดลอง	สัปดาห์ของการทดลอง*		
	2	8	16
1. กลุ่มควบคุม (เลี้ยง 3 ตัว/กรง)	13.01±3.72 ^a	13.76±5.52 ^a	15.84±4.17 ^a
2. กลุ่มควบคุม (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	12.76±6.04 ^{ab}	12.99±4.58 ^{ab}	15.40±5.86 ^{ab}
3. เสริมสารสกัดหยาบใบฝรั่ง 10 มก./กก.อาหาร (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	12.43±2.38 ^{abc}	12.47±3.46 ^{ab}	14.11±4.53 ^b
4. เสริมสารสกัดหยาบใบฝรั่ง 20 มก./กก.อาหาร (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	11.42±5.74 ^{bc}	12.14±4.12 ^b	14.19±4.07 ^b
5. เสริมสารสกัดหยาบใบฝรั่ง 30 มก./กก.อาหาร (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	10.96±4.75 ^c	11.86±5.54 ^b	14.07±5.54 ^b

*ค่าเฉลี่ย ± SE ที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$)

จากการทดลองพบว่า การเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งในอาหารมีผลทำให้ปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดงลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ในทุกระยะของการให้ผลผลิต (ตารางที่ 9) โดยการเพิ่มระดับการใช้ผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งมีผลทำให้ระดับคอเลสเตอรอลในไข่แดงลดลงตามลำดับ และมีค่าต่ำสุดในกลุ่มที่เสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งในระดับ 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ทั้งนี้เนื่องจากสารเคอร์ซีดินและแทนนินจากผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่ง มีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล คือ 3-hydroxy-3-methyl glutaryl CoA reductase (HMG-CoA reductase) ซึ่งเป็นขั้นตอนในการจำกัดการสร้างคอเลสเตอรอลในตับ ตลอดจนเอนไซม์อื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ cholesterol 7 α -hydroxylase, fatty acid synthetase และ glucose-6-phosphate dehydrogenase ในวิถี pentose phosphate pathway (Qureshi *et al.*, 1983)

5. ผลของผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งในการลดผลกระทบจากความเครียดในรูปของค่าสัดส่วนเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลล์ต่อลิมโฟไซต์ (H:L ratio)

ค่าสัดส่วนของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลล์ต่อลิมโฟไซต์ (H:L ratio) สามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงภาวะเครียดในสัตว์ปีก เมื่อร่างกายสัตว์ได้รับสิ่งเร้าจากสภาพแวดล้อมทั้งภายในและภายนอกที่ไม่เหมาะสม เช่น การเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ ช่วงแสง อายุ และน้ำหนักร่างกายส่งผลต่อความเครียดที่เกิดขึ้นในสัตว์ไก่ ทำให้จำนวนเฮเทอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นและลดลิมโฟไซต์ โดยปกติค่าสัดส่วนของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลล์ต่อลิมโฟไซต์จะมีค่าสูงขึ้นตามระดับของความเครียดที่เกิดขึ้นภายในร่างกาย (Gross and Siegel, 1983; McFarlane and Curtis, 1989) การเลี้ยงไก่ในสภาพหนาแน่นขึ้นสามารถส่งผลให้สัตว์เกิดความเครียดเช่นเดียวกัน (Heckert *et al.*, 2002) การทดลองนี้พบว่า เมื่อเริ่มต้นการทดลองค่า H: L ratio ของไก่ทดลองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.45 ± 0.11 ซึ่งสอดคล้องกับ H:L ratio ปกติของสัตว์ปีกที่มีค่าระหว่าง 0.33-0.57 (Jain, 1993) การเลี้ยงไก่ในสภาพที่หนาแน่นกว่าปกติ (เลี้ยง 4 ตัว/กรง) มีผลทำให้ค่า H: L ratio สูงกว่ากลุ่มที่เลี้ยงในสภาพหนาแน่นปกติ (เลี้ยง 3 ตัว/กรง) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในทุกช่วงของการทดลอง (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 ค่าสัดส่วนของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลล์ต่อลิมโฟไซต์ (H:L ratio)

กลุ่มทดลอง	สัปดาห์ของการทดลอง**		
	5	10	15
1. กลุ่มควบคุม (เลี้ยง 3 ตัว/กรง)	0.54±0.12 ^b	0.68±0.10 ^b	0.56±0.08 ^{ab}
2. กลุ่มควบคุม (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	0.68±0.06 ^a	1.21±0.15 ^a	0.64±0.15 ^a
3. เสริมสารสกัดหยาบใบฝรั่ง 10 มก./กก. อาหาร (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	0.50±0.14 ^b	0.42±0.10 ^b	0.35±0.11 ^c
4. เสริมสารสกัดหยาบใบฝรั่ง 20 มก./กก. อาหาร (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	0.46±0.12 ^b	0.48±0.14 ^b	0.41±0.09 ^c
5. เสริมสารสกัดหยาบใบฝรั่ง 30 มก./กก. อาหาร (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	0.30±0.16 ^b	0.41±0.09 ^b	0.34±0.13 ^c

**/ค่าเฉลี่ย ± SE ที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในแนวดิ่ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

เนื่องจากสภาพที่สัตว์เกิดความเครียดจะมีการหลั่งฮอร์โมนแคทีโคลามีน (catecholamine) จากต่อมหมวกไตส่วนใน และฮอร์โมนกลูโคคอร์ติคอยด์ (glucocorticoid) จากต่อมหมวกไตส่วนนอกเข้าสู่กระแสเลือดมากขึ้น (Sapolsky, 1992; Richard, 1998) ฮอร์โมนดังกล่าวจะทำหน้าที่ปรับสภาวะต่างๆ ภายในร่างกายให้สมดุล เพิ่มอัตราเมแทบอลิซึมเพื่อรักษาพลังงานในร่างกายให้คงที่ (Wingfield *et al.*, 1998) และกลูโคคอร์ติคอยด์มีผลทำให้เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ลดลง (Harmon, 1998) และเพิ่มระดับเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลล์จาก hemopoetic system ให้เข้าสู่กระแสเลือดมากขึ้น (Jain, 1993) ส่งผลให้ค่า H: L ratio มีค่าเพิ่มขึ้น

นอกจากนี้ กลูโคคอร์ติคอยด์ยังสามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระที่มีออกซิเจนเป็นส่วนประกอบเพิ่มขึ้นตามระดับความเครียดที่เกิดขึ้น (Puvadolpirod and Thaxton, 2000; Dorge, 2002) เป็นสาเหตุให้เซลล์ได้รับความเสียหายและตายได้ (Buttke and Sandstorm, 1994) หากร่างกายสัตว์ได้รับผลกระทบจากความเครียดติดต่อกันเป็นเวลานาน นอกจากจะทำให้อัตราส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิลล์ต่อลิมโฟไซต์เพิ่มขึ้นแล้วยังทำให้การผลิตแอนติบอดีลดลง โดยยับยั้งการทำงานของ interleukin-2 ซึ่งมีความสำคัญต่อการแบ่งตัวและการเจริญของ B-lymphocyte (Siegel, 1995) ในขณะเดียวกันทำให้การสร้างอนุมูลอิสระในร่างกายเพิ่มขึ้น และ

กระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ (Manoli *et al.*, 2000) ทำให้เซลล์ได้รับความเสียหาย และการเสื่อมถอยของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งมีผลยับยั้งการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน เช่น เกิดการฟุ้งของต่อมไทมัส เบอร์ซา และม้าม (Tizard, 2000)

การเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งในระดับ 10-30 มิลลิกรัมต่อกิโกรัมอาหาร ส่งผลให้ค่า H: L ratio ลดลงตามระดับของเพิ่มขึ้นของผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบในอาหาร ($P < 0.05$) ในทุกช่วงของการทดลอง ทั้งนี้เนื่องจากสารเคอร์ซีตินจากผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง (Tachakittirungrod *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2007) โดยสามารถต้านอนุมูลอิสระชนิดซูเปอร์ออกไซด์และเปอร์ออกไซด์ได้ (Chen and Yen, 2006) และช่วยเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดอนุมูลอิสระ เช่น catalase และ glutathione peroxidase (เรณู, 2552) จึงสามารถช่วยลดผลกระทบที่เกิดจากอนุมูลอิสระส่วนเกินที่เกิดขึ้นในระหว่างที่สัตว์ได้รับความเครียด จึงช่วยให้ระบบภูมิคุ้มกันโรคของสัตว์ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ

6. ผลของผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งต่อการเกิดอนุมูลอิสระในร่างกาย

6.1 ค่าความสามารถรวมของสารต้านอนุมูลอิสระในการรีดิวซ์เหล็กเฟอริก

ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการรีดิวซ์เหล็กเฟอริก (ferric reducing ability of plasma: FRAP) เป็นการวัดความสามารถรวมในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างพลาสมา (total antioxidant capacity: TAC) หากสัตว์ปีกมีค่า TAC ต่ำกว่าปกติจะมีความเสี่ยงต่อปัญหาด้านสุขภาพ ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจะขึ้นกับปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระที่สัตว์ได้รับจากอาหาร และสารต้านอนุมูลอิสระที่สร้างขึ้นในร่างกายของสัตว์ ผลการทดลองพบว่า ระดับของค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเมื่อเริ่มต้นการทดลองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $1,724.58 \pm 66.83$ ไมโครโมลต่อลิตร การเลี้ยงไก่ในสภาพหนาแน่นกว่าปกติ (4 ตัว/กรง) มีผลทำให้ค่า TAC ของไก่ไข่ในช่วงสัปดาห์ที่ 5 ของการทดลองลดลงอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงในสภาพหนาแน่นปกติ (3 ตัว/กรง) ดังแสดงในตารางที่ 11 ซึ่งโดยทั่วไปความเครียดจะกระตุ้นให้ร่างกายของสัตว์สร้างอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ROS (reactive oxygen species) ซึ่งจะเพิ่มมากขึ้นตามระดับความเครียดที่เกิดขึ้นภายในร่างกาย ในขณะที่เดียวกันร่างกายจะมีการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่ม

มากขึ้นด้วย เพื่อช่วยควบคุมอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นไม่ให้สูงจนเป็นอันตรายต่อเซลล์ โดยพบว่าร่างกายจะมีการสร้างกรดยูริก (Lin *et al.*, 2004) และการจับกลูตาไธโอน (glutathione: GSH) ออกจากเซลล์ตับ (Lew *et al.*, 1985; Hirota *et al.*, 1989; Dorge, 2002) เข้าสู่กระแสเลือด ซึ่งกรดยูริกจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูงในสัตว์ปีก (Becker, 1993; Jansman, 1993) และ GSH จัดเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่สำคัญในการกำจัดอนุมูลอิสระที่มีออกซิเจนเป็นส่วนประกอบ โดยจะทำงานร่วมกับเอนไซม์ glutathione peroxidase (GPx) (Yang *et al.*, 1987) อย่างไรก็ตามหากร่างกายเกิดอนุมูลอิสระมากก็จะทำให้ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในร่างกายลดลง

ตารางที่ 11 ค่าเฉลี่ยความสามารถรวมของสารต้านอนุมูลอิสระในการวัดด้วยหลักเพอริก (TAC) (หน่วย: ไมโครโมลต่อลิตร)

กลุ่มทดลอง	สัปดาห์ของการทดลอง		
	5*	10**	15**
1. กลุ่มควบคุม (เลี้ยง 3 ตัว/กรง)	1,453.92±17.09 ^{bc}	1,386.50±48.49 ^B	1,372.33±46.56 ^B
2. กลุ่มควบคุม (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	1,409.75±66.18 ^c	1,493.71±89.12 ^{AB}	1,371.29±83.40 ^B
3. เสริมสารสกัดหยาบ 10 มก./กก. อาหาร (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	1,560.11±62.32 ^{ab}	1,575.17±31.51 ^{AB}	1,473.29±47.74 ^{AB}
4. เสริมสารสกัดหยาบ 20 มก./กก. อาหาร (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	1,580.92±46.73 ^{ab}	1,511.92±59.27 ^{AB}	1,569.25±78.80 ^{AB}
5. เสริมสารสกัดหยาบ 30 มก./กก. อาหาร (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	1,661.71±78.35 ^a	1,625.00±19.57 ^A	1,485.21±58.85 ^{AB}

*ค่าเฉลี่ย ± SE ที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01)

**ค่าเฉลี่ย ± SE ที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

การเลี้ยงไก่ไข่ในสภาพหนาแน่นกว่าปกติในระยะเวลาที่นานขึ้น (ในช่วงสัปดาห์ที่ 10 และ 15 ของการทดลอง) มีผลต่อค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (TAC) อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ซึ่งเป็นกลไกการปรับตัวของร่างกายสัตว์ต่อความเครียดที่ได้รับ

ติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน Carter *et al.* (2004) รายงานว่า การได้รับความเครียดบ่อยครั้งจะทำให้ร่างกายสัตว์มีกลไกการปรับตัว ทำให้ปริมาณสารอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นต่ำ อย่างไรก็ตามการเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งมีผลทำให้ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้นตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากสารสกัดหยาบจากใบฝรั่งที่สัตว์ได้รับจากอาหาร เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการกำจัดอนุมูลอิสระ และมีบทบาทสำคัญในการเพิ่ม TAC เช่นเดียวกัน โดยเฉพาะสารเคอร์ซีตินซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ที่สำคัญโดยมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ชัดเจน (Stafford, 1990; Jansman, 1993; Okuda *et al.*, 2005) สอดคล้องกับ Jimenez-Escrig *et al.* (2001) พบว่า สารโพลีฟีนอลในส่วนใบฝรั่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วย free radical DPPH scavenging, ferric reducing antioxidant power assay (FRAP) และ inhibitory of copper-catalyzed *in vitro* human low-density lipoprotein (LDL) oxidation โดยผลที่ได้มีค่าเท่ากับ Trolox 43, 116 และ 176 มิลลิกรัม ตามลำดับ

6.2 การเกิดปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (lipid peroxidation)

การเกิดปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน มีสาเหตุสำคัญมาจากความเครียดจากภาวะออกซิเดชันซึ่งเกิดขึ้นระหว่างอนุมูลอิสระและไขมัน ซึ่งอนุมูลอิสระจะเข้าไปทำลายโมเลกุลของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของเยื่อหุ้มเซลล์ให้ได้รับความเสียหาย ส่งผลให้การทำหน้าที่ของเซลล์ผิดปกติและเกิดการตายได้ ผลที่ได้จากการเกิดกระบวนการดังกล่าวจะเกิดสารในกลุ่มของอัลดีไฮด์ เช่น malondialdehyde และ 4-hydroxynonenal หรือ Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) ซึ่งใช้เป็นค่าบ่งชี้ถึงปฏิกิริยาความเครียดจากภาวะออกซิเดชันได้เป็นอย่างดี (Porter *et al.*, 1995; Halliwell, 1996)

ในการทดลองครั้งนี้พบว่าค่า TBARS ในพลาสมา ก่อนเริ่มต้นทดลองของไก่ไข่มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.50 ± 0.04 นาโนโมลต่อมิลลิลิตร และค่า TBARS มีค่าสูงขึ้นตามอายุของไก่ที่เพิ่มมากขึ้น (ตารางที่ 12) การเหนี่ยวนำให้สัตว์เกิดความเครียดจากภาวะออกซิเดชันด้วยการเพิ่มความหนาแน่นในการเลี้ยงเป็น 4 ตัว/กรง มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของไขมันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่จะเห็นได้ว่าการเลี้ยงสัตว์ในสภาพหนาแน่นในระยะเวลาเพิ่มขึ้นจะมีผลทำให้ค่า TBARS เพิ่มขึ้นใกล้เคียงกับกลุ่มที่เลี้ยงในสภาพหนาแน่นปกติ ทั้งนี้อาจเกิดจากร่างกายสามารถปรับตัวได้ดีขึ้น และเกิดจากไก่ไข่ในกลุ่มที่เลี้ยงในสภาพหนาแน่นปกติ (3 ตัว/กรง) เกิด

ความเครียดจากการเลี้ยงในกรงแคบติดต่อกันเป็นเวลานาน ส่งผลให้เกิดอนุมูลอิสระใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 12 ค่าของผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งต่อการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมันในรูปของค่า TBARs (หน่วย: นาโนโมลต่อลิตร)

กลุ่มทดลองที่	สัปดาห์ของการทดลอง		
	5*	10*	15**
1. กลุ่มควบคุม (เลี้ยง 3 ตัว/กรง)	1.91±0.03 ^{ab}	2.67±0.19 ^a	2.72±0.21 ^A
2. กลุ่มควบคุม (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	2.28±0.02 ^a	2.73±0.09 ^a	2.78±0.11 ^A
3. เสริมสารสกัดหยาบใบฝรั่ง 10 มก./กก. อาหาร (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	1.76±0.16 ^{ab}	2.13±0.22 ^{bc}	2.20±0.22 ^B
4. เสริมสารสกัดหยาบใบฝรั่ง 20 มก./กก.อาหาร (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	1.67±0.27 ^{ab}	2.09±0.20 ^c	2.10±0.13 ^{BC}
5. เสริมสารสกัดหยาบใบฝรั่ง 30 มก./กก.อาหาร (เลี้ยง 4 ตัว/กรง)	1.54±0.11 ^b	2.12±0.16 ^{bc}	2.11±0.23 ^{BC}

*ค่าเฉลี่ย ± SE ที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในแนวนั่ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01)

**ค่าเฉลี่ย ± SE ที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในแนวนั่ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

อย่างไรก็ตามการเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งในระดับ 10-30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีผลในการช่วยลดการเกิดปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของไขมันลงตามลำดับ โดยจะเห็นได้ว่าค่า TBARs จากกลุ่มที่ได้รับการเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบในระดับ 20-30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีค่าต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมทั้งสองกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้เกิดจากความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารเคอร์ซีติน ที่มีผลยับยั้งเอนไซม์ที่มีผลต่อการสร้างอนุมูล อีกทั้งสามารถจับกับอนุมูลโลหะที่มีผลส่งเสริมให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน อาทิ เหล็กและทองแดง ตลอดจนสามารถกำจัดอนุมูลอิสระด้วยการรับอิเล็กตรอนและให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ (วิวัฒน์, 2545; Pietta, 2000) นอกจากนี้กรดฟีนอลิก (phenolic acid) ในสารสกัดหยาบจากใบฝรั่งมีฤทธิ์ในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันเช่นเดียวกัน (Tachakittirungrod

et al., 2006) โดยกรดฟีนอลสามารถจับกับสารอนุมูลอิสระเปอร์ออกไซด์ (peroxyl radical) ได้เป็น aroxyl radical กับ hydroperoxide จากนั้น peroxyl กับ aroxyl radical จะรวมตัวกันเป็นสารที่ไม่มีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระ (วิวัฒน์, 2545; Pietta, 2000) อีกทั้งสารสกัดหยาบจากใบฝรั่งสามารถช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ที่ช่วยกำจัดอนุมูลอิสระ (เรณู, 2552; Reddy and Lokesh, 1992) ส่งผลให้เกิดเปอร์ออกไซด์ของไขมันลดลง ดังนั้น การศึกษาในครั้งนี้สามารถบ่งชี้ประโยชน์ของสารสกัดหยาบจากใบฝรั่ง ในการป้องกันความเสียหายจากภาวะออกซิเดชันที่สัตว์ได้รับเมื่ออยู่ในสภาพที่เกิดความเครียดจากสาเหตุต่างๆ อาทิ การเลี้ยงในสภาพหนาแน่น เป็นต้น

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. การเลี้ยงไก่ไข่ในสภาพหนาแน่นกว่าปกติ (พื้นที่ต่อตัวเท่ากับ 240 ตารางเซนติเมตร) ส่งผลเพิ่มภาวะเครียดของไก่ทำให้ การให้ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่และเปอร์เซ็นต์การเลี้ยงรอดลดลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีแนวโน้มทำให้ปริมาณอาหารที่กินและค่าสอพยูนิตของไข่ขาวลดลง แต่ไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อองค์ประกอบของฟองไข่และสีของไข่แดง
2. การเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งในระดับ 20-30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารสามารถช่วยลดผลกระทบที่เกิดขึ้นจากการเลี้ยงในสภาพการเลี้ยงที่มีความหนาแน่นกว่าปกติ ทั้งในด้านปริมาณและคุณภาพของผลผลิตไข่
3. การเสริมผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งทุกระดับสามารถลดระดับคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมา ตลอดจนระดับคอเลสเตอรอลในไข่แดงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และระดับการลดลงของคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์มีความสัมพันธ์โดยตรงกับการเพิ่มระดับของผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งในอาหาร
4. สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งช่วยลดผลกระทบของความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยเพิ่มความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ลดสัดส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮโมโกลอโกลินโฟไซต์ และลดการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมันในร่างกาย
5. การใช้ผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งในระดับ 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ส่งผลทำให้ผลผลิตและสุขภาพโดยรวมของแม่ไก่ที่เลี้ยงในสภาพหนาแน่นดีขึ้น อีกทั้งเป็นแนวทางหนึ่งในการใช้เพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์จากสัตว์ในรูปของ “ไข่คอเลสเตอรอลต่ำ”

ข้อเสนอแนะ

1. ศึกษาการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับขบวนการต้านออกซิเดชั่น ได้แก่ superoxide dismutase, glutathione peroxidase และ catalase เป็นต้น ซึ่งจะช่วยให้การประเมินค่าความเครียดจากภาวะออกซิเดชั่นชัดเจนมากขึ้น เนื่องจากมีรายงานการวิจัย พบว่า การเกิดความเครียดมีผลทำให้การทำงานของเอนไซม์ด้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นลดลง
2. ความเครียดส่งผลให้ร่างกายสร้างกรดยูริกเพิ่มสูงขึ้นโดยเฉพาะในสัตว์ปีกซึ่งจากรายงาน พบว่า กรดยูริกมีความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชั่นที่มีประสิทธิภาพสูงซึ่งน่าจะมีความสัมพันธ์กับค่า total antioxidant capacity ที่เพิ่มมากขึ้นด้วย
3. การวัดความเข้มข้นของรีดิวซ์กลูตาไธโอนต่อออกซิไดซ์ กลูตาไธโอน (GSH/GSSG) ในตัวอย่างเซลล์เม็ดเลือดแดง และพลาสมา ซึ่งกลูตาไธโอนจัดได้ว่าเป็นสารต้านออกซิเดชั่นที่มีความสำคัญอย่างมากภายในเซลล์ ซึ่งมีรายงานว่า ความเครียดจะกระตุ้นการจับของกลูตาไธโอนภายในเซลล์ออกสู่ภายนอกเซลล์ซึ่งมีผลทำให้ระดับของกลูตาไธโอนในกระแสเลือดสูงขึ้น ซึ่งมีความสัมพันธ์กับค่า total antioxidant capacity ที่เพิ่มขึ้นด้วย
4. ศึกษาไลโปโปรตีนที่มีความหนาแน่นต่ำ (low density lipoprotein) และไลโปโปรตีนที่มีความหนาแน่นสูง (high density lipoprotein) ซึ่งค่าดังกล่าวสามารถบอกความสัมพันธ์ที่เกี่ยวข้องกับปริมาณคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในเลือดได้ชัดเจนขึ้น
5. บทบาทของสารออกฤทธิ์จากพืชในการต้านหรือฆ่าเชื้อจุลินทรีย์อาจไม่ใช่สิ่งสำคัญที่สุดในอาหารสัตว์ยุคใหม่ แต่บทบาทการตอบสนองทางสรีรวิทยาของสัตว์อาจสำคัญกว่าสำหรับการผลิตสัตว์ในระดับอุตสาหกรรมในอนาคต

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

จารุพันธ์ ทองแถม. 2532. ฝรั่งน้ำคั้นไม้ผลอุตสาหกรรมใหม่ของไทย. เกษะการเกษตร.
13(2): 69-75.

จินดาพร ภูมิพัฒน์วณิช, อรุณพร อิฐรัตน์, สิริวิมล ปิ่นสุวรรณ, สุทธิมาลย์ อิงคถาวรพงษ์ และ
สุริยา สุขขิง. 2548. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์โครงการเตรียมและการศึกษาความ
คงตัวของผลิตภัณฑ์จากสารสกัดใบฝรั่งเพื่อใช้สำหรับการผลิตสัตว์. สำนักงานกองทุน
สนับสนุนการวิจัย (สกว.).

ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว. 2541. สรีรวิทยาทางเดินอาหาร. ภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์,
มหาวิทยาลัยมหิดล, นครปฐม.

ชิดพงษ์ กวีวรรุติ. 2544. ตำราการใช้ยาและสมุนไพร. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
กรุงเทพฯ.

เชนทร์ พางนุช. 2547. ผลของการเสริมใบฝรั่งและผลอ่อนผงในอาหารต่อสมรรถนะการผลิต และ
การควบคุมโรคในไก่เนื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

เต็ม สมิตินันท์. 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 2. สวนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนัก
วิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

ถนอมจิต สุภาวิตา. 2545. พืชสมุนไพร. ภาควิชาเภสัชเวชและเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

ทักษิณย์ อภิชาติสรางกูร. 2540. สุขศาสตร์สัตว์. สารพัดพิมพ์, เชียงใหม่.

นพดล สมผล วันทนีย์ พลวิเศษ ไกรจักร แก้วพรม และ สิริทัศน์ พันธุ์ประสิทธิ์. 2549. ผลของการ
ใช้ผงใบฝรั่ง ผงกระเทียม และสมุนไพรผสมต่อสมรรถภาพการผลิตของแม่ไก่ไข่
คณะเทคโนโลยีการเกษตร. มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม, มหาสารคาม.

นันทวัน บุญยะประภัศร. 2542. สมุนไพรพื้นบ้าน. ศูนย์ข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ.

นิพนธ์ รัตนผล และ มณีรัตน์ รัตนผล. 2545. การใช้ใบฝรั่งในการป้องกันโรคบิดในไก่เนื้อ. น. 224-225. ใน สมุนไพรไทย: โอกาสและทางเลือกใหม่ของอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ วันที่ 24-25 ตุลาคม พ.ศ. 2545 ณ โรงแรมมารวยการ์เด็น เขตจตุจักร, กรุงเทพฯ.

บงอร คำบัวไหล สุชน ตั้งทวีพัฒน์ บุญล้อม ชีวะอิสระกุล และ วีระ วงศ์คำ. 2547. ระดับและชนิดของสมุนไพรที่มีผลต่อการป้องกันโรคบิดในไก่. ใน การประชุมวิชาการสมุนไพรไทย: โอกาสและทางเลือกใหม่ของอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ ครั้งที่ 2. โรงพิมพ์ไตรณสาร, กรุงเทพฯ. น. 145-162.

บุญล้อม ชีวะอิสระกุล. 2546. ชีวเคมีทางสัตวศาสตร์. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

บุญล้อม ชีวะอิสระกุล และ บุญเสริม ชีวะอิสระกุล. 2542. พื้นฐานสัตวศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

เบญญาภา สุรสอน ภาวดี ภักดี เขวมาลย์ คำเจริญ และ บัณฑิต เต็งเจริญกุล. 2550. ผลการเสริมผลกล้วยดิบและใบฝรั่งผงในอาหารต่อสุขภาพและภูมิคุ้มกันโรคในไก่เนื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ประภัศรา กันภัย. 2547. ผลของไฟโตเอสโตรเจนในภาวะเครียดของสัตว์ปีกต่อระดับคอเลสเตอรอลในไข่แดงและประสิทธิภาพการให้ผลผลิตไข่ในไก่ไข่. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปัญญาจักษ์ ฐนังกุล และ ชัยโย ชัยยุทธทิพยุทธ. 2530. การศึกษาผลทางคลินิกของใบฝรั่งในโรคอุจจาระร่วง. สารศิริราช. 39 (5): 263-267.

เพียวเหมือนวงศัญชาติ. 2537. ตำราวิทยาศาสตร์สมุนไพร. บริษัทเมดิคัลมีเดีย จำกัด, กรุงเทพฯ.

พรรณิกา ชุมศรี. 2526. แทนินและโพลีฟีนอล. ใน: เกษขนิพนธ์ เล่ม 1. ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ.

พีรรัชต์ ไทยนะ มาลินี วงศ์นาวา วีรวัฒน์ มัทธนตระกุล นิสิตา บำรุงวงศ์ วันดี อุดมอักษร
อำพล รังสิมาพงศ์ อนุพงศ์ นิตเรืองจรัส และ ปณิดา มุสิกวัฒน์. 2540. การศึกษาความ
เป็นพิษของน้ำสกัดใบฝรั่งในหนูขาวใหญ่. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์.
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่, สงขลา.

เพ็ญศรี บุญตามช่วย อรอนงค์ คงทวี และ มานพ เห็นดิน. 2548. ประสิทธิภาพของสารสกัดใบฝรั่ง
ด้วยวิธีการต้มต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อไวรัสโกลด์คาล์ม. การประชุม
วิชาการประมงปี 2548. น. 11-15.

ไพโรจน์ ผลประสิทธิ์. 2540. รวมกลยุทธ์ฝรั่ง. เจริญการพิมพ์. กรุงเทพฯ.

บุษนา ศิริวัชนนกุล สุรพล ชลดำรงกุล และ สมเกียรติ ทองรักษ์. 2545. ผลของฟ้าทะลายโจร
ใบฝรั่ง ขมิ้นชัน ไพล และเปลือกมังคุดต่อการรักษาโรคท้องร่วงในลูกสุกร. น. 115-125.
ใน สมุนไพรไทย: โอกาสและทางเลือกใหม่ของอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ วันที่ 24-25
ตุลาคม พ.ศ. 2545 ณ โรงแรมมารวยการ์เด็น เขตจตุจักร, กรุงเทพฯ.

รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล พานิช ษศปัญญา และ ชาญวิทย์ เบญจมะ. 2542. สมุนไพร: ยาไทยที่ควรรู้.
อมรินทร์ พรินติ้ง แอนด์พับลิชชิ่ง.

เรญา ม้าทอง. 2552. การใช้ผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบจากใบฝรั่งในอาหารไก่เนื้อ. วิทยานิพนธ์
ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลีลา เรื่องเป็น สมพร รุ่งกำเนิดวงศ์ อังคณา หิรัญสาตี และ สถาพร ดิเรกบุษราคม. 2539. ฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทยบางชนิดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในกุ้งกุลาดำ. รายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2539. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, กรมประมง. น. 24-37.

วรรณพร พุทธนา. 2547. ผลของสารสกัดจากใบฝรั่งในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* และการเจริญเติบโตของสุกรหย่านม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

วันชัย ไอรารัตน์ วีรพล คู่คงวิชัยพันธ์ และ จินตนา สัตยาชัย. 2543. การศึกษาฤทธิ์ต้านอาการท้องร่วงของน้ำสกัดใบฝรั่งและเปลือกทับทิมตากแห้งในสัตว์ทดลอง. ศรีนครินทร์เวชสาร. 15(1): 3-11.

วันดี กฤษณพันธ์. 2539. สมุนไพรสารพัดประโยชน์. ศูนย์หนังสือจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

วิรัตน์ หาญธงชัย เขาวมาลย์ คำเจริญ บัณฑิตย์ เต็งเจริญกุล และ ภาวดี ภักดี. 2550. ผลการเสริมผลกล้วยดิบและใบฝรั่งผงในอาหารต่อสมรรถนะการผลิตคุณภาพซาก และการควบคุมโรคบิดในไก่เนื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

วิศิษฐ์ เกตุปัญญางศ์ ยุทธนา ศิริวัธนกุล รุณพร อิฐรัตน์ และ วันวิสาข์ งามผ่องใส. 2544. ผลของใบฟ้าทะลายโจรและใบฝรั่งต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของลูกสุกรท้องร่วง. วารสารการแพทย์แผนไทย. 5(5): 33-42.

วุฒิ วุฒิธรรมเวช. 2540. สารานุกรมสมุนไพร. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ. น. 263-333.

ศูนย์ข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2530. ก้าวไปกับสมุนไพร เล่มที่ 2. ธรรมการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

สกล ไข่มคำ. 2548. บทบาทของแทนนินในอาหารสัตว์. วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร. 22(2): 28-50.

สถาบันวิจัยสมุนไพร. 2544. **มาตรฐานสมุนไพรไทยฝรั่ง (*Psidium guajava* Linn.)**.

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. โรงพิมพ์ ร.ส.พ., กรุงเทพฯ.

สถาพร ดิเรกบุษราคัม และ อุษณีย์ เอกปณฺฐานพงศ์. 2535. ผลของสารสกัดหยาบจากใบฝรั่งต่อเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในกุ้งกุลาดำ. รายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2535.

สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, กรมประมง. น. 259-262.

สมเดช กนกเมธากุล. 2537. แทนนินสารร่างใหญ่ที่น้ำจืด. วารสารวิทยาศาสตร์. 20(3): 91-96.

สมศักดิ์ วิชัยนันท์. 2539. **สมุนไพรใกล้ตัว**. ข่าวสารเกษตรภาคตะวันออกเฉียงเหนือ.

23(1-2): 57-60.

สร้อยดี เพื่อกสกันธ์. 2532. **สวนฝรั่ง**. ฐานเกษตรกรรม. นนทบุรี.

สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน. 2541. **ฝรั่ง**. สมุนไพรในงานสาธารณสุขมูลฐาน.

กระทรวงสาธารณสุข. ดอกหญ้า, กรุงเทพฯ.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2550. **สถานะการปลูกสัตว์ ปี 2549 และแนวโน้มปี 2550**.

สุธา วัฒนสิทธิ์ ยุทธนา ศิริวัชรนนกุล และ อรุณพร อิฐรัตน์. 2548. ผลของการเสริมฟ้าทะลายโจรและใบฝรั่งต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่กระตัง. วารสารสงขลานครินทร์.

27: 587-596.

เสงี่ยม พงษ์บุญรอด. 2522. **ฝรั่งไม้เทศเมืองไทย**. โรงพิมพ์กรุงธน, กรุงเทพฯ.

อรุณวรรณ เพ็ญประภากร. 2538. การเปรียบเทียบการใช้ใบฝรั่งบดละเอียดผสมในอาหารลูกสุกรระยะแรกตลอดถึงหย่านมเพื่อป้องกันโรคท้องเสีย. มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่.

เอมมนัส อัดตวิษณุ ปราณี ขวลิตร่าง พัทธ์ รัชชามัน และ ปราณี จันทเพ็ชร. 2538. การศึกษาพิษของใบฝรั่ง. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 37(4): 289-305.

- Abdelrahim, S.I., A.Z. Almagboul, M.E.A. Omer and A. Elegami. 2002. Antimicrobial activity of *Psidium guajava*. **Fitoterapia**. 73: 713-715.
- Almeida, C.E., M.G. Karnikowski, R. Foletto and B. Baldisserotto. 1995. Analysis of antidiarrhoeic effect of plants used in popular medicine. **Revista De Saude Publica**. 29: 428-433.
- Ames, B.N., E. Catheart, S.A. Schwieters and P. Hochstein. 1993. An antioxidant defense in humans against and radical caused aging and cancer. **Proc. Nat. Acad. Sci**. 78: 6858-6862.
- Anderson, J.J.B. and S.C. Garner. 1998. Phytoestrogens and bone. **Ballieres Clin. Endocrinol. Metab**. 12(4): 543-557.
- Arai, Y., S. Watanabe, M. Kimura, K. Shimoi, R. Mochizuki and N. Kinae. 2000. Dietary intakes of flavonols, flavones and isoflavones by Japanese women and the inverse correlation between quercetin intake and plasma LDL cholesterol concentration. **J. of Nutr**. 130: 2243-2250.
- Athanasiadou, S., I. Kyriazakis, F. Jackson and R.L. Coop. 2000. Effects of short term exposure To condensed tannins on adult *Trichostrongylus colubriformis*. **Vet. Res**. 146: 713-734.
- Austin, R.E. 1977. Role of shell gland in determination of albumen quality. **Poult. Sci**. 56: 202-210.
- Austin, R.E. and M.C. Nesheim. 1990. **Poultry Production** 13th ed. Lea and Febiger, Philadelphia. London.
- Ayensu, H.A. and S. Edward. 1981. **Myrtaceae (*Psidium guajava* Linn.) Medicinal plants of the West Indies**. Reference Publications, Inc., Algonac, Michigan.

- Bagchi, D., M. Bagchi, S.J. Stohs, D.K. Das, S.D. Ray and C.A. Kuszynski. 2000. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. **Toxicol.** 148: 187-197.
- Bartov, I., S. Bornstein and P. Budowski. 1971. Variability of cholesterol concentration in plasma and egg yolk of hen and evaluation of the effects of some dietary oil. **Poult. Sci.** 50: 1357-1364.
- Basile, A., S. Giordano, J.A. Lopez-Saez and R.C. Cobianchi. 1999. Antibacterial activity of pure flavonoids isolated from mosses. **Phytochemistry.** 52: 1479-1482.
- Bate-Smith, E.C. 1977. Artringent tannins of acer species. **Phytochemistry.** 16: 1421-1426.
- Becker, B.F. 1993. Towards the physiological function of uric acid. **Free. Rad. Bio. Med.** 14: 615-631.
- Beckman, K.B. and B.N. Ames. 1998. The free radical theory of aging matures. **Physiol. Rev.** 78: 547-581.
- Begum, S., S.I. Hassan, B.S. Siddiqui, F. Shaheen, M.N. Ghayur and A.H. Gilani. 2002. Triterpenoids from the leaves of *Psidium guajava*. **Phytochemistry.** 61: 173-177.
- _____. 2004. Chemical constituents from leaves of *Psidium guajava*. **Nat. Prod. Res.** 18: 135-140.
- Blokhuys, H.J. 1994. Intensive production units and welfare: **Domestic fowl. Rev. Sci. Tech.** 13: 67-78.

Bohnstedt, K.C. 2005. Determination of biomarker for lipid peroxidation and oxidative stress.

Free Radical Bio. Med. 27: 186-192.

Bonten, M.J., R. Willems and R.A. Weinstein. 2001. Vancomycin-resistant enterococci: why are they here, and where do they come from? **Lancet. Infect. Dis.** 1(5): 314-325.

Bozena, P.P., K. Trzback, E. Król and A. Gawron. 2008. Effects of quercetin and verapamil on membrane potential in the liverwort *Conocephalum conicum*. **Acta Physiol. Plant.** 1: 61-68.

Brown, M.S. and J.L. Goldstein. 1986. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. **Science.** 232: 34-47.

Burney, S., J.C. Niles, P.C. Dedon and S.R. Tannenbaum. 1999. DNA damage in deoxynucleosides and oligonucleotides treated with peroxynitrit. **Chem. Res. Toxicol.** 12: 513-520.

Buttke, T.M. and P.A. Sandstorm. 1994. Oxidative stress as a mediator of apoptosis. **Immunology Today.** 15: 7-10.

Caceres, A., L. Figueroa, A.M. Taracena and B. Samayoa. 1990. Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory disease. **J. of Ethnopharmacol.** 39(1): 77-82.

Caceres, F.A., L. Fletes, L. Aguilar, O. Ramirez, L. Figueroa, A.M. Taracena and B. Samayoa. 1993. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders 3 Confirmation of activity against enterobacteria of 16 plants. **J. of Ethnopharmacol.** 30: 55-57.

Carter, R.N., S.B. Pinnock and J. Herbert. 2004. Does the amygdale modulate adaptation to repeated stress? **Neuroscience.** 126(1): 9-19.

- Cattanach, L., R. Malley and J. Rodin. 1988. Psychologic and physiologic reactivity to stressors in eating disordered individuals. **Psychosom. Med.** 50: 591-599.
- Cenci, F.B., H. Louvandini, C.M. McManus, A.D. Dellpoto, D.M. Araujo, A.P. Minho and A.L. Abdalla. 2007. Effects of condensed tannin from *Acacia mearnsii* on sheep infected naturally with gastrointestinal helminthes. **Vet. Parasitol.** 144: 132-137.
- Chandler, W.H. 1958. **Evergreen Orchards**. 2nd ed. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Chen, H.Y. and G.C. Yen. 2006. Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of extracts from guava (*Psidium guajava* L.) leaves. **J. Food Chem.** 101: 686-694.
- Chen, H.Y., C. Lin and C.L. Hsieh. 2007. Evaluation antioxidant activity of aqueous extract of some selected nutraceutical herb. **J. Food Chem.** 35: 145-149.
- Cheng, J.T. and R.S. Yang. 1983. Hypoglycemic effect of guava juice in mice and human subjects. **The American J. of Chinese Medicine.** 11: 74-76.
- Choi, J.A., J.Y. Kim, J.Y. Lee, C.M. Kang, H.J. Kwon, Y.D. Yoo, T.W. Kim, Y.S. Lee and S.J. Lee. 2001. Induction of cell cycle arrest and apoptosis in human breast cancer cells by quercetin. **Int. J. Oncol.** 19: 837-844.
- Chopra, I. and M. Roberts. 2001. Tetracycline antibiotics: Mode of action, applications, molecular biology and epidemiology of bacterial resistance. **Microbiol. Molecular Biol. Rev.** 65: 232-260.
- Chung, K.T., T.Y. Wong, C.I. Wei, Y.W. Huang and Y. Lin. 1998. Tannins and human health: A Review. **CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** 38: 421-464.

Cobley, L.S. 1956. **Introduction to Botany of Tropical Crops**. Longman Group, New York.

Davies, K.J.A., M.E. Delsignore and S.W. Lin. 1987. Protein damage and degradation by oxygen radical II modification of amino acids. **J. Biol. Chem.** 262: 9902-9907.

Dhawan, B.N., G.K. Patnaik, R.P. Rastogi, K.K. Singh and J.S. Tandon. 1977. Screening of Indian plants of biological activity: Part VI. **J. Experimental Biol.** 15: 208-219.

Donaldson, J., M.F.J. Houtert and A.R. Sykes. 1997. The effect of protein supply on the periparturient parasite status of the mature ewe. **Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod.** 22: 186-189.

Dorge, W. 2002. Free radicals in physiological control of cellular function. **Physiol. Rev.** 82: 47-95.

Duncan, D.B. 1955. Multiple range and multiple F-tests. **Biometric.** 11: 1-42.

Eggum, B.O., G. Thorbek, R.M. Beames, A. Chwalibag and S. Henckel. 1982. Influence of diet and microbial activity in the digestive tract on digestibility, nitrogen and energy metabolism in rat and pig. **Br. J. of Nutr.** 48: 161-175.

Feeley, R.M., P.E. Criner and B.K. Watt. 1972. Cholesterol content of foods. **J. Am. Diet. Assoc.** 61: 134-149.

Feeny, P. and H. Bostock. 1968. Seasonal change in the tannin content of oak leaves. **Phytochemistry.** 7: 871-880.

Fernandez-Pachon, M.S., D. Villano, A.M. Troncoso and M.C. Garcia Parrilla. 2005. Antioxidant capacity of plasma alter red wine intake in human volunteers. **J. Agri. Food Chem.** 53: 5024-5029.

- Festa, F., T. Aglitti, G. Duranti, R. Ricordy, P. Perticone and R. Cozzi. 2001. Strong antioxidant activity of ellagic acid in mammalian cells in vitro revealed by the comet assay. **Anticancer Res.** 21: 3903-3908.
- Fuller, H.L., S.I. Chang and D.K. Potter. 1967. Detoxication of dietary tannic acid by chicks. **The J. of Nutr.** 91: 47-57.
- Gao, J., X. Tang, H. Dou, Y. Fan, X. Zhao and Q. Xu. 2004. Hepatoprotective activity of *Terminalia catappa* Linn. leaves and its two triterpenoids. **J. Phar. Pharmacol.** 56: 1449-1455.
- Gardner, F.A. and L.L. Young. 1972. The influence of dietary protein and energy levels on the protein and lipid content of the hen's egg. **Poult. Sci.** 51: 994-997.
- Gnan, S.O. and M.T. Demello. 1999. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by aqueous Goiaba extracts. **J. of Ethnopharmacol.** 68: 103-108.
- Goldstein, J.L. and T. Swain. 1965. The inhibition of enzymes by tannins. **Phytochemistry.** 4: 185-192.
- Gonalves, J.L.S., R.C. Lopes, D.B. Oliveira, S.S. Costa, M.M. Miranda, M.T.V. Romanos, N.S.O. Santos and M.D. Wigg. 2005. *In vitro* anti-rotavirus activity of some medicinal plants used in Brazil against diarrhea. **J. of Ethnopharmacol.** 35: 123-126.
- Gous, R.M. and F.J. Kleyn. 1989. Response of laying hens to energy and amino acids. *In: Recent Developments in Poultry Nutrition.* (Eds. D.J.A. Cole & W. Haresign). Butterworths, London, England.
- Gross, W.B. and H.S. Siegel. 1983. Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chicken. **Avian Dis.** 27: 972-979.

- Grover, S.I. and S. Bala. 1993. Studies on antimutagenic effects of guava in *Salmonella typhimurium*. **Mutat. Res.** 300: 1-3.
- Grune, T., T. Reinheckel and K.J.A. Davies. 1997. Degradation of oxidized proteins in mammalian cells. **FASEB. J.** 11: 526-534.
- Habib, M.A. 1986. Studies on the lipid and protein composition of guava seeds (*Psidium guajava* Linn.). **Food Chem.** 22: 7-16.
- Hagerman, A.E. and L.G. Butler. 1980. Determination of protein in tannin-protein precipitates. **J. Agri. Food. Chem.** 28: 944-947.
- Halliwell, B. 1996. Oxidative stress, nutrition and health experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. **Free radical Res.** 25: 57-74.
- Halliwell, B. and J.M.C. Gutteridge. 1989. **Free radical in biology and medicine.** 2nd eds. Clarendon, Oxford, U.K.
- Hargis, P.S. 1998. Modifying egg yolk cholesterol in the domestic fowl-a review. **World's Poult. Sci. J.** 44: 17-29.
- Harmon, B.G. 1998. Avian heterophils in inflammation and disease resistance. **Poult. Sci.** 77: 972-977.
- Harris, P.C. and F.H. Wilcox. 1963. Studies on egg yolk cholesterol: 3. Effect of dietary cholesterol. **Poult. Sci.** 42: 186-189.
- Haslam, E. 1986. Secondary metabolism-fact and fiction. **Nat. Prod. Rep.** 3: 217-249.

Haslam, E. 1989. **Plant Polyphenol-Vegetable Tannin Revisited**. Cambridge University Press: Cambridge.

_____. 1993. **Skimic Acid: Metabolism and Metabolite**. Chichester-New York: John Wiley.

_____. 1998. **Practical Polyphenol: from Structure to Molecular Recognition and Physiological Function**. Cambridge University Press: Cambridge, U.K.

Heckert, R.A., I. Estevez, E. Russek-Cohen and R. Pettit-Riley. 2002. Effects of density and perch availability on the immune status of broilers. **Poult. Sci.** 81: 451-457.

Hemingway, R.W., T.M. Gross and G.G. Yoshida. 1999. **Plant Polyphenols: Chemistry and Biology**. Plenum Press: New York.

Hertog, M.G., E.J. Feskens, P.C. Hollman, M.B. Katan and D. Kromhout. 1993. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly study. **Lancet**. 342: 1007-1011.

Hidetoshi, A. and D. Gen-ichi. 2002. Isolation of antimicrobial compounds from guava (*Psidium guajava* L.) and their structural elucidation. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**. 66: 1727-1730.

Hilrano, R.T. and H.Y. Nakosone. 1969. Chromosome numbers of ten species and clones in the genus *Psidium*. **J. Amer. Hort. Sci.** 94: 83-86.

Hirota, M., M. Inoue, Y. Ando, K. Hirayama, Y. Morino, K. Sakamoto, K. Mori and M. Akagi. 1989. Inhibition of stress-induced gastric injury in the rat by glutathione. **Gastroenterology**. 97: 853-859.

Hofstad, M.S., H.J. Barmes, B.W. Calnek, W.M. Beidand and J.R. Yoder. 1984. **Disease of Poultry**. 8th edition. Iowa state University Press. Ames U.S.A.

Holeta, F.B., G.L. Pessini, N.R. Sanches, D.A.G. Cortez, C.V. Nakamura and B.P.D. Filho. 2002. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz**. 97: 1027-1031.

Hollman, P.C., H. de Vries, J.H.M. van Leeuwen, S.D. Mengelers and M.J.B. Katan. 1995. Absorption of dietary quercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. **Am. J. Clin. Nutr.** 62: 1276-1282.

Idstein, H., C. Bauer and P. Schreier. 1985. Volatile acids in tropical fruits: cherimoya (*Annona cherimolia* Mill.), guava (*Psidium guajava* L.), mango (*Mangifera indica* L. var. Alphonso), papaya (*Carica papaya* L.). **Zeitschrift Fuer Lebensmittel-Untersuchung und Forschung**. 180: 394-397.

Iqbal, Z., K.A. Mufti and M.N. Khan. 2002. Anthelmintic effect of condensed tannins. **Int. J. Agric. Biol.** 4: 438-440.

Jaiari, P., P. Khoohaswan, Y. Wongkrajang, P. Peungvichi, P. Suriyawong, M.L. Sumal and O. Ruangsomboon. 1999. **J. of Ethnopharmacol.** 67: 203-212.

Jain, N.C. 1993. **Essential of Veterinary Hematology**. Lea&Febiger, Philadelphia. pp. 133-168.

Jansman, A.J.M. 1993. Tannins in feedstuffs of a simple stomached animals. **Nutr. Res. Rev.** 6: 2039-236.

- Jimnez-Escrig, A., M. Rinc, R. Pulido and F. Saura-Calixto. 2001. Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fiber. **J. of Agri. and Food Chem.** 49: 5489-5493.
- Jordán, M.J., C.A. Margara, P.E. Shaw and K.L. Goodner 2003. Volatile components and aroma active compounds in aqueous essence and fresh pink guava fruit puree (*Psidium guajava* L.) by GC-MS and multidimensional GC/GC-O. **J. of Agri. and Food Chem.** 51: 1421-1426.
- Joslyn, M.A. and Z. Glick. 1969. Comparative effects of gallotanic acid and related phenolics on the growth of rats. **J. Nutr.** 98: 119-123.
- Keli, S.O., M.G.L. Hertog, E.J.M. Feskens and D. Kromhout. 1996. Dietary flavonoids, antioxidant vitamins, and incidence of stroke. **Arch. Intern. Med.** 156: 637-642.
- Kinoshita, D., F. Hirota, T. Kaisho, M. Kasai, K. Izumi, Y. Bando, Y. Mouri, A. Matsushima, S. Niki, H. Han, K. Oshikawa, N. Kuroda, M. Maegawa, M. Irahara, K. Takeda, S. Akira and M. Matsumoto. 2006. Essential role of I κ B kinase alpha in thymic organogenesis required for the establishment of self-tolerance. **J. of Immunol.** 176: 3995-4002.
- Knekt, P., S. Isotupa and H. Rissanen. 2000. Quercetin intake and the incidence of cerebrovascular disease. **Eur. J. Clin. Nutr.** 54: 415-417.
- Komnonos, J., D. Kckos and B.J. Macris. 1988. Antimicrobial properties of tannins. **Biotechnol. Bioeng.** 32: 939-940.
- Kudzma, D.J., J.B. Swaney and E.N. Ellis. 1979. **Biochem. Biophys. Acta.** 572: 257-268.

- Latza, S., D. Ganber and R.G. Berger. 1996. Carbohydrate ester of cinnamic acid from fruit of *Physalis peruviana*, *Psidium guajava* and *Vaccinium vitis-idaea*. **Phytochemistry**. 43: 481-485.
- Lee, K.D. and J.H. Choi. 1985. Interrelationships among time of oviposition, egg weight, shell weight and rate of egg production of laying hens. **Poult. Sci.** 64: 2256-2258.
- Leeson, S. and J.D. Summers. 1997. **Commercial Poultry Nutrition**. 2nd ed. Ontario: University Book.
- Lew, H., S. Pyke and A. Quintanilha. 1985. Changes in the glutathione status of plasma, liver and skeletal muscle following exhaustive exercise in rats. **FEBS Letter**. 185: 262-266.
- Li, J., F. Chen and J. Luo. 1999. GC-MS analysis of essential oil from the leaves of *Psidium guajava* Linn. **J. of Chinese Medicinal Materials**. 22: 78-80.
- Li, Y., J. Kim, J. Li, F. Liu, X. Liu and K. Himmeldirk. 2005. Natural antidiabetic compound 1,2,3,4,6-penta-*O*-galloyl-d-glucopyranose binds to insulin receptor and activates insulin-mediated glucose transport signaling pathway. **Biochem. Biophysiol. Res. Commun.** 336: 2430-2437.
- Lin, H., E. Decuypere and J. Buyse. 2004. Oxidative stress induced by corticosterone administration in broilers chickens. **Comp. Biochem. Physiol. Part B**. 139: 737-744.
- Lin, J., T. Puckree and T.P. Mvelasr. 2002. Anti-diarrhoeal evaluation of some medicinal plants used by Zulu traditional healers. **J. of Ethnopharmacol.** 79: 53-56.
- Losso, J.N., R.R. Bansode, H.A. Bawadi, R. Truax and A. Trappey. 2004. *In vitro* anti-proliferative activities of ellagic acid. **J. Nutr. Biochem.** 15: 672-678.

- Lozoya, X., M. Meckes, M. Abou-Zaid, J. Tortoriello, C. Nozzolillo and J.T. Arnason. 1994. Quercetin glycosides in *Psidium guajava* L. leaves and determination of a spasmolytic principle. **Arc. of Med. Res.** 25: 11-15.
- Lutterodt, G.D. 1989. Inhibition of gastrointestinal release of acetylcholine by quercetin as a possible mode of action of *Psidium guajava* leaf extract in the treatment of acute diarrhoeal disease. **J. of Ethnopharmacol.** 25: 235-247.
- _____. 1992. Inhibition of microlax-induced experimental diarrhoea with narcotic-like extracts of *Psidium guajava* leaf in rats. **J. of Ethnopharmacol.** 37: 151-157.
- Lutterodt, E.F. and A. Maleque. 1988. Effects on mice locomotor activity of a narcotic like principle from *Psidium guajava* leaves. **J. of Ethnopharmacol.** 24: 219-231.
- Manoli, L.P., G.D. Gamaro, P.P. Silveira and C. Dalmaz. 2000. Effect of chronic variate species and on total radical-trapping potential in distinct regions of rat brain. **Neurochem. Res.** 35: 235-241.
- Maria, S.C.L., A.C. Tadiotti, D. Baldochi and O. Maria Mascarenhas Faria Oliveira. 2005. Partial purification, heat stability and kinetic characterization of the pectinmethylesterase from Brazilian guava, Paluma cultivars. **J. of Agri. and Food Chem.** 48: 124-128.
- Martin-Tanguy, J., J. Guillaume and J. Kossa. 1977. Condensed tannins in horse bean seeds: chemical structure and apparent effects on poultry. **J. of the Sci. of Food and Agri.** 28: 757-760.
- Maxwell, M.H. 1993. Avian blood leucocyte responses to stress. **World's Poult. Sci. J.** 49: 34-43.

- McFarlane, J.M. and S.E. Curtis. 1989. Multiple concurrent stressors in chickens. 3. Effects on plasma corticosterone and the heterophil:lymphocyte ratio. **Poult. Sci.** 68: 522-527.
- Menzel, C.M. 1985. Guava: axotic fruit with potential in Queensland. **Queensland Agriculture.** 111: 93-97.
- Mercadante, A.Z., A. Steck and H. Pfander. 1999. Carotenoids from guava (*Psidium guajava* L.): isolation and structure elucidation. **J. of Agri. and Food Chem.** 47: 145-151.
- Metodiewa, D., A.K. Juiswal, N. Cenas, E. Dickancaite and A.J. Segura. 1999. Quercetin may be act as a cytotoxic prooxidant after metabolic activation to semiquinone and quinoidal product. **Free Radical Biol.** 26: 106-116.
- Mila, I., A. Scalbert and D. Expert. 1996. Iron with holding by plant polyphenols and resistance to pathogens and rats. **Phytochemistry.** 42: 1551-1555.
- Min, B.R., G.T. Attwood, K. Reilly, W. Sun, J.S. Peters, T.N. Barry and W.C. McNabb. 2002a. *Lotus corniculatus* condensed tannins decrease *in vivo* populations of proteolytic bacteria and affect nitrogen metabolism in the rumen of sheep. **Can. J. Microbiol.** 48: 911-921.
- _____. 2002b. The effect of condensed tannin from *Lotus corniculatus* on the proteolytic bacteria activities and growth of rumen bacteria. **Anim. Sci.** 80: 1597-1602.
- Mokrzycki, K. 2000. Anti-atherosclerotic efficacy of quercetin and sodium phenylbutyrate in rabbits. **Ann. Acad. Med.** 46: 189-200.
- Morales, M.A. and X. Lozoya. 1994. Calcium-antagonist effects of quercetin on aortic smooth muscle. **Planta Medica.** 60: 313-317.

- Moseley, G. and D.W. Griffiths. 1979. Varietal variation in the anti-nutritive effects of field beans (*Vicia faba*) when fed to rats. **J. Sci. Food Agri.** 30(8): 772-778.
- Mouria, M., A.S. Gukovskaya, Y. Jung, P. Buechler, O.J. Hines, H.A. Reber and S.J. Pandol. 2002. Food-derived polyphenols inhibits pancreatic cancer growth through mitochondrial cytochrome C release and apoptosis. **Int. J. Can.** 98: 761-769.
- Mukhtar, H.M., S.H. Ansari, M. Ali, T. Naved and Z.A. Bhat. 2004. Effect of water extract of *Psidium guajava* leaves on alloxan-induced diabetic rats. **Die Pharmazie.** 59: 734-735.
- Murata, L.S., J. Ariki, C.R. Machado, L.G. Silva and M.J. Rezende. 2003. Effects of oils sources on blood lipid parameters of commercial laying hens. **Br. J. Poult. Sci.** 5(3): 203-206.
- Nakasone, H.Y. and R.E. Paull. 1998. **Tropical Fruits.** CAB International, Wallingford, U.K.
- Narayanan, B.A., O. Geoffroy, M.C. Willingham, G.G. Re and D.W. Nixon. 1999. Effect of p53/p21 (WAF1/CIP1) expression and its possible role in G1 arrest and apoptosis in ellagic acid treated cancer cells. **Can. Let.** 136: 215-221.
- Niezen, J.H., T.S. Waghorn, W.A.G. Charleston and G.C. Waghorn. 1995. Growth and gastrointestinal nematode parasitism in lambs grazing either Lucerne (*Medicago sativa*) or Sulla (*Hedysarum coronarium*) which contains condensed tannins. **J. Agri. Sci.** 125: 281-289.
- Nigel, J.H. 1992. **Tropical Forests and their Crops.** London: Cornell University Press.
- North, M. and D. Bell. 1990. **Commercial Chicken Production Manual.** New York: Van Nostrand Reinhold.

- Nundkumar, N. and J.A.O. Ojewole. 2002. Studies on the antiplasmodial properties of some South African medicinal plants used as antimalarial remedies in Zulu folk medicine. **Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology**. 24: 397-401.
- Oh, W.K., C.H. Lee, M.S. Lee, E.Y. Bae, C.B. Sohn, H. Oh, B.Y. Kim and J.S. Ahn. 2005. Antidiabetic effects of extracts from *Psidium guajava*. **J. of Ethnopharmacol.** 96: 411-415.
- Ohtsuka, A., H. Kojima, T. Ohtani and K. Hayashi. 1998. Vitamin E reduces glucocorticoid-induced oxidative stress in rat skeletal muscle. **J. Nutr. Sci. Vita.** 44: 779-786.
- Okuda, T., T. Yoshida, T. Hatano, K. Yazaki and M. Ashida. 1980. Ellagitannins of the casuarinaceae, stachyuraceae and myrtaceae. **Phytochemistry**. 21: 2871-2874.
- _____. 1995. **Progress in the Chemistry of Organic Natural Products**. 66: 1-117.
- _____. 2005. Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. **Phytochemistry**. 66: 2012-2031.
- Olajide, O.A., S.O. Awe and J.M. Makinde. 1999. Pharmacological studies on the leaf of *Psidium guajava* Linn. **Fitoterapia**. 70: 25-31.
- Ong, A.C.M., T.P. Jowett, J.D. Firth, S. Burton and F.E. Karet. 1995. An endothelin-1 mediated autocrine growth loop involved in human renal tubular regeneration. **Kidney Int.** 48: 390-401.
- Orzechowski, O., P. Ostaszewski, A. Brodnicka, J. Wilczak, M. Jank, B. Balasinska, K. Grzelkowska, T. Ploszaj, J. Olczak and A. Mrowczynska. 2000. Excess of glucocorticoids impairs whole body antioxidant status in young rats. **Horm. Metab. Res.** 32: 174-180.

- Osman, H.E., N. Maale and D. Shanmuganayagam. 1998. Grape juice but not orange or grapefruit juice inhibits platelet activity in dogs and monkeys. **J. Nutr.** 128: 2307-2312.
- Padula, M. and D.B. Rodriguez-Amaya. 1986. Characterisation of the carotenoids and assessment of the vitamin A value of Brazilian guavas (*Psidium guajava* L.). **Food Chem.** 20: 11-19.
- Pereira, B., E.J. Bechara, J.R. Mendonca and R. Curi. 1999. Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in the lymphoid organs and skeletal muscles of rats treated with dexamethasone. **Cell. Biochem. Funct.** 17: 15-19.
- Pietta, P.G. 2000. Flavonoids as antioxidants. **J. of Nat. Prod.** 63: 1035-1042.
- Porter, N.A., S.E. Caldwell and K.A. Mills. 1995. Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. **Lipids.** 30: 277-290.
- Potter, D.K., H.L. Fuller and D.D. Blacksher. 1967. Effect of tannic acid on egg production and egg yolk molting. **Poult. Sci.** 46: 1508-1511.
- Powrie, W.D. and S. Nakai. 1986. The chemistry of eggs and egg products. *In: Egg Science and Technology*. 3rd ed. Westport, Conn: AVI Publishing Co.
- Puvadolpirod, S. and J.P. Thaxton. 2000. Model of physiological stress in chicken. 1 Response parameters. **Poult. Sci.** 79: 363-369.
- Qian, H. and V. Nihorimbere. 2004. Antioxidant power of phytochemicals from *Psidium guajava* leaf. **J. of Zhejiang University Science.** 5: 676-683.

- Qureshi, A.A., Z.Z. Din, N. Abuirmeileh, W.C. Burger, Y. Ahmad and C.E. Elson. 1983. Suppression of avian hepatic lipid metabolism by solvent extracts: impact on serum lipids. **J. Nutr.** 113: 1746-1755.
- Rabe, T. and J.V. van Staden. 1997. Antibacterial activity of South African plants used for medicinal purposes. **J. of Ethnopharmacol.** 56: 81-87.
- Rahmat, A., M.F. Abu Baker, N. Faezah and Z. Hambail. 2004. The effects of consumption of guava (*Psidium guajava*) or papaya (*Carica papaya*) on total antioxidant and lipid profile in normal male youth. **Asia Pacific J. of Clin. Nutr.** 13: 106-110.
- Rajashree, S. and R. Puvanakrishnan. 1998. Dexamethasone induced alterations in enzymatic and nonenzymatic antioxidant status in heart and kidney of rats. **Mol. Cell. Biochem.** 181: 77-85.
- Ranelletti, F., N. Maggiano, F. Serra, R. Ricci, L. Larocca, P. Lanza, G. Scambia, A. Fattorossi, A. Capelli and M. Piantelli. 2000. Quercetin inhibits p21-ras expression in human colon cancers cells in lines and in primary colorectal tumors. **Int. J. Can.** 85: 438-445.
- Rauha, J.P., S. Remes, M. Heinonen, A. Hopia, M. Kahkonen, T. Kujala, K. Pihlaja and H. Vuorela. 2000. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. **Int. J. Food Microbiol.** 56: 3-12.
- Re, L., S. Barocci, C. Capitani, C. Vivani, M. Ricci, L. Rinaldi, A. Paolucci, A. Scarpantonio, O.S. Len-Fernandez and M.A. Morales. 1999. Effects of some natural extracts on the acetylcholine release at the mouse neuromuscular junction. **Pharmacol. Res.** 39: 112-115.
- Reddy, A.C. and B.R. Lokesh. 1992. Studies on spice principles as antioxidants in the inhibition of lipid peroxidation of rat liver microsomes. **Mol. Cell Biochem.** 111(1-2): 117-124.

- Regnier, J.A. and K.W. Kelly. 1981. Heat and cold stress suppresses in vivo and in vitro cellular immune responses of chickens. **Am. J. Vet. Res.** 42(2): 294-299.
- Richard, J.J. 1998. Physiological management and environmental triggers of the ascites syndrome. **Poultry International: Asia Pacific Edition.** 37(8): 28-33.
- Richter, M., R. Ebermann and B. Marian. 1999. Quercetin-induced apoptosis in colorectal tumor cells: possible role of EGF receptor signaling. **Nutr. and Can.** 34: 88-99.
- Robertson, H.A., J.H. Niezen, G.C. Waghorn, W.A.G. Chalreston and M. Jinlong. 1995. The effect of six herbages on live weight gain, wool growth and faecal egg count of parasitized ewe lambs. **Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod.** 55: 199-201.
- Robinson, D.S. 1987. The chemical basis of albumen quality. *In: Egg Quality-Current Problems and Recent Advances.* Longman Scientific & Technical, Harlow, Essex, England, pp. 179-211.
- Ross, R. 1986. The pathogenesis of atherosclerosis-an update. **Eng. J. Med.** 314: 488-500.
- Ryan, C.A. and T.R. Green. 1974. Proteinase inhibitors in natural plant protection. **Res. Adv. Phytochemistry.** 8: 123-140.
- Santos-Buelga, C. and A. Scalbert. 2000. Procyanidins and tannin-like compounds–nature occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. **J. Sci. Food Agri.** 80: 1094-1117.
- Sapolsky, R.M. 1992. Neuroendocrinology of the stress-response, p. 287-324. *In* J.B. Becker, S.M. Breedlove, and D. Crews, eds. **Behavioral Endocrinology.** MIT Press, Cambridge.

- SAS. 1996. **SAS Procedures Guides**, Release 6.3. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Scalbert, A. 1991. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**. 30: 1875-1883.
- Schaefer, E.J. 2002. Lipoprotein, Nutrition and heart diseases. **Am. J. Clin. Nutr.** 75: 191-212.
- Shaheen, H.M., B.H. Ali, A.A. Alqarawi and A.K. Bashir. 2000. Effect of *Psidium guajava* leaves on some aspects of the central nervous system in mice. **Phytotherapy Res.** 14: 107-111.
- Shigeura, G.T. and R.M. Bullock. 1983. **Guava (*Psidium guajava* Linn.) Research Extension Series 035**. College of Tropical Agric and Human Resources, University of Hawaii.
- Siegel, H.S. 1995. Stress strains and resistance. **Br. J. Poult. Sci.** 36: 3-22.
- Sies, H. 1997. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. **Experimental Physiology**. 82: 291-295.
- Singh, R.B., S.S. Rastogi, N.K. Singh, S. Ghosh, S. Gupta and M.A. Niaz. 1993. Can guava fruit intake decrease blood pressure and blood lipid? **J. Human Hypertens.** 7: 8-33.
- Sinnhuber, R.O., I.C. Yu and T.C. Yu. 1958. Characterization of the red pigment formed in the 2-thiobarbituric acid determination of oxidative rancidity. **Food Res.** 23: 624-634.
- Smith, R. and S. Siwatibau. 1975. Sesquiterpene hydrocarbons of Fijian guavas. **Phytochemistry**. 14: 2013-2015.
- Snedecor, G.W. and W.G. Cochran. 1967. **Statistical Methods**. 6th ed., The Iowa State University Press, Ames, Iowa, U.S.A.

- Stadtman, E.R. 1993. Oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins by radiolysis and by metal-catalyzed reactions. **Annu. Rev. Biochem.** 62: 797-821.
- Stafford, H.A. 1990. **Flavonoid Metabolism**. CRC Press: Boca Raton.
- Strumeyer, D.H. and M.J. Malin. 1970. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**. 30(12): 3857-3883.
- Suthienkul, O., O. Miyazaki, M. Chulasiri, U. Kositanont and K. Oishi. 1993. Retroviral reverse transcriptase inhibitory activity in Thai herbs and spices: screening with Moloney murine leukemia viral enzyme. Southeast Asia. **J. Trop. Med. Public Health**. 24: 751-755.
- Sutton, C.C., W.M. Muir and G.E. Mitchell. 1984. Cholesterol metabolism in laying hen as influenced by dietary cholesterol, caloric intake and genotype. **Poult. Sci.** 63: 972-980.
- Tachakittirungrod, S., S. Okonogi and S. Chowwanapoonpohn. 2006. Study on antioxidant activity of certain plant in Thailand: Mechanism of antioxidant action of guava leaf extract. **J. Food Chem.** 7: 34.
- Tizard, I.R. 2000. **An Introduction to Veterinary Immunology**. 6th ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- Tona, L., K. Kambu, N. Ngimba, K. Cimanga and A.J. Vlietinck. 1998. Antiamoebic and phytochemical screening of some Congolese medicinal plants. **J. of Ethnopharmacol.** 61: 57-65.

- Tona, L., K. Kambu, N. Ngimba, K. Cimanga and A.J. Vlietinck. 2000. Antiamoebic and spasmolytic activities of extracts from some antidiarrhoeal traditional preparations used in Kinshasa, Congo. *Phytomedicine: International. J. of Phytotherapy and Phytopharmacol.* 7: 31-38.
- Uni, Z., Y. Noy and D. Sklan. 1999. Metabolism and nutrition posthatch development of small intestinal function in the poultry. *Poult. Sci.* 78: 215-222.
- Varavutthikunchi, S., A. Lortheeranuwat, W. Jeeju, T. Sririrak, S. Phongpaichit and T. Supawita. 2004. Effective medicinal plants against enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *J. of Ethnopharmacol.* 94: 49-54.
- Verpoorte, R. and P.P. Dihal. 1987. Medicinal plants of Surinam IV. Antimicrobial activity of some medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* 21: 315-318.
- Vieira, R.H., D.P. Rodrigues, F.A. Goncalves, F.G. Menezes, J.S. Arag and O.V. Sousa. 2001. Microbicidal effect of medicinal plants extracts (*Psidium guajava* Linn.) and *Carica papaya* Linn. Upon bacteria isolated from fish muscles and known to induce diarrhea in children. *Revista Do Instituto De Medicina Tropical De Sao Paulo.* 43: 145-148.
- Vinies, P., N. Malats, M. Porta and F.X. Real. 1999. Human cancer, carcinogenic exposures and mutation spectra. *Mutat. Res.* 436: 185-194.
- Vohra, P., F.H. Kratzer and M.A. Joslyn. 1966. The growth depressing and toxic effects of tannins to chicks. *Poult. Sci.* 45: 135-142.
- Wang, D., D.A. Kreutzer and J.M. Essigmann. 1998. Mutagenicity and repair of oxidative DNA damage: insights from studies using defined lesions. *Mutat. Res.* 400: 99-115.

- Wegner, M.S., J.L. Kelley, E.C. Nelson, P. Alaupovic and R.H. Thayer. 1978. Lipid metabolism in laying hen: the relationship of plasma lipid and liver fatty acid synthetase activity to changes in liver composition. **Poult. Sci.** 57: 959-967.
- Will, R.B.H. and H. Greenfield. 1984. **Laboratory Instruction Manual for Composition Studies.** Department of Food Science and Technology, The University of New South Wales.
- Wingfield, J.C., D.L. Maney, C.W. Breuener, J.D. Jacobs, S. Lynn, M. Ramenofsky and R.D. Richaardson. 1998. Ecological bases of hormone behavior interactions: the “emergency life history stage”. **Am. Zool.** 38: 191-206.
- Wyllie, A.H., J. Kerr and A. Currie. 1980. Cell death: the significance of apoptosis. **Int. Rev. Cytol.** 68: 251-306.
- Xavier, L., R.M. Hortensia, A. Marco, M.G. Chavez-Soto, S.G. Yolanda and Svetlana V.D. 2002. Intestinal anti-spasmodic effect of a phytodrug *Psidium guajava folia* in the treatment of acute diarrheic disease. **J. of Ethnopharmacol.** 83: 19-24.
- Yang, J.G., J. Morrison-Plummer and R.F. Burk. 1987. Purification and quantitation of rat plasma selenoprotein distinct from glutathione peroxidase using monoclonal antibodies. **J. Biol. Chem.** 262: 13372-13375.
- Zhang, W.J., B.T. Chen, C.Y. Wang, Q.H. Zhu and Z.X. Mo. 2003. Mechanism of quercetin as an antidiarrheal agent. **Academic Journal of The First Medical College of PLA.** 23: 1029-1031.
- Zhu, J. and L.J. Filippich. 1995. Acute intra-abomasal toxicity of tannic acid in sheep. **Vet. Human Toxicol.** 37: 50-54.





ตารางผนวกที่ ก1 ส่วนประกอบของอาหารไก่ไข่สูตรเปรียบเทียบที่ใช้ในการทดลอง

ชนิดวัตถุดิบ	ปริมาณที่ใช้ (%)
ข้าวโพด	56.09
กากถั่วเหลือง (44%)	19.10
ปลาป่น (59%)	2.31
รำข้าว	12.00
หินปูน	8.80
ไฮเปอร์ฟอสเฟต (21%)	1.00
เกลือ	0.15
ดีแอล-เมทไธโอนีน	0.09
โคลีน-คลอไรด์ (60%)	0.11
วิตามิน-แร่ธาตุ	0.15
โซเดียมไบคาร์บอเนต-98	0.19
สารกันหืน	0.01
รวม	100.00
ส่วนประกอบของโภชนะ	
ความชื้น (%)	9.82
โปรตีน (%)	16.30
ไขมัน (%)	4.26
เยื่อใย (%)	3.35
เถ้า (%)	12.87
แคลเซียม (%)	3.79
ฟอสฟอรัสทั้งหมด (%)	0.76
ฟอสฟอรัสใช้ประโยชน์ได้ (%)	0.40
เกลือ (%)	0.20
พลังงานใช้ประโยชน์ได้ (kcal/kg)	2,750.00
ไลซีน (%)	0.89
เมทไธโอนีน	0.39
เมทไธโอนีน+ซิสตีน (%)	0.70
ทรีโอนีน (%)	0.66
ทริปโตเฟน (%)	0.19



1. การวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดง

วิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดงอ้างอิงตามวิธีของ Will and Greenfield (1984) ปรับปรุงโดยวิธีการของฝ่ายเคมีอาหาร สถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล โดยใช้เครื่อง gas chromatograph

1.1 อุปกรณ์

- 1.1.1 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- 1.1.2 water bath
- 1.1.3 Pasteur pipettes
- 1.1.4 ขวดกั่นกลมหรือขวดรูปหัวใจขนาด 50 มิลลิเมตร
- 1.1.5 หลอดทดลองขนาด 16x150 มิลลิเมตร พร้อมฝา
- 1.1.6 rotary evaporator
- 1.1.7 micropipette
- 1.1.8 ตู้อบความร้อน (hot air oven)
- 1.1.9 เครื่อง gas chromatograph

ก. gas chromatography condition

- 1) columns
 - HP-5 5% phenyl methyl siloxane capillary column
 - ความยาว 15 เมตร
 - ID ขนาด 0.25 มิลลิเมตร
 - บรรจุด้วย silica และเคลือบด้วย carbowax 0.25 ไมโครเมตร
- 2) detector
 - flame ionized detector (FID)
- 3) carrier gas
 - helium, 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที
 - flow rate 23 เซนติเมตรต่อวินาที
- 4) temperature program
 - injector temperature 320 องศาเซลเซียส
 - oven temperature 300 องศาเซลเซียส

- detector temperature 325 องศาเซลเซียส

5) inlet

- split ration 33:1

- split flow 26.4 มิลลิลิตรต่อนาที

6) inject

- ครึ่งละ 1.0 ไมโครลิตร

1.2 วิธีการ

1.2.1 การเตรียม silanized test tubes

ก. ล้างหลอดทดลองด้วยเมทานอลโดยเทเมทานอลลงในหลอดทดลองจนถึงปากหลอดที่ละหลอด

ข. อบแห้งใน hot air oven ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น

ค. เคลือบหลอดทดลองด้วย 10 เปอร์เซ็นต์ของ DMCS ในสารละลาย toluene โดยเทลงในหลอดทดลองที่ละหลอดจนถึงปากหลอด และปิดฝาหลอดให้สนิท ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง
ง. เท 10 เปอร์เซ็นต์ของ DMCS ออก

จ. ล้างด้วยเมทานอลและอบแห้งใน hot air oven ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส อีก 2 ครั้ง แล้วจึงนำหลอดทดลองมาใช้ได้

หมายเหตุ : ขั้นตอนที่ ก-จ ทำเพียงครั้งเดียวก่อนนำหลอดทดลองมาใช้ แต่หลังจากใช้ทุกครั้งต้องล้างหลอดด้วยน้ำกลั่น 2 รอบ และเมทานอล 3 รอบ สุดท้ายนำไปอบให้แห้งใน hot air oven ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ก่อนนำกลับมาใช้ใหม่

1.2.2 การเตรียมสารละลาย 5 α -cholestane มาตรฐานความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (internal standard 5 α -cholestane solution)

ชั่ง 5 α -cholestane 10 มิลลิกรัม ละลายใน n-heptane 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวดที่ป้องกันแสง และเก็บไว้ในตู้เย็น

1.2.3 การเตรียมสารละลายคอเลสเตอรอลมาตรฐานความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (standard cholesterol solution)

ก. ชั่งคอเลสเทอรอลมาตรฐาน 500 มิลลิกรัม ละลายใน isopropanol 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวดที่ป้องกันแสง และเก็บไว้ในตู้เย็น

ข. คูณสารละลายมาตรฐาน 1, 2, 4, 6 และ 8 มิลลิลิตร ใส่ในขวดก้นกลม ซึ่งจะมีเนื้อสารหนัก 0.1316, 0.2643, 0.5294, 0.7937 และ 0.1058 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

ค. นำสารละลายคอเลสเทอรอลมาตรฐานทั้ง 5 ความเข้มข้น ไประเหยแห้งด้วย rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

1.2.4 การเตรียมตัวอย่างไข่แดง

ก. ขั้นตอน saponification

- 1) ชั่งตัวอย่างไข่แดงประมาณ 0.2 กรัม ใส่ในหลอดทดลองที่มีฝาปิด
- 2) นำตัวอย่างมาเติมเอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ 4 มิลลิลิตร และสารละลายโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ 1 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอดทดลองให้แน่น และเขย่าหลอดทดลองอย่างแรงประมาณ 15 วินาที (ควรทำในตู้ดูดควัน)
- 3) อุณหภูมิหลอดทดลองใน water bath ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส reflux ต่อ 1 ชั่วโมง และเขย่าหลอดทดลองอย่างแรงประมาณ 15 วินาที ทุก 15 นาที

ข. ขั้นตอน extract unsaponification matter

- 1) นำหลอดทดลองออกจาก water bath ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง และเติมน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตร
- 2) เติม petroleum ether 5 มิลลิลิตร เขย่าอย่างแรง 15 วินาที แล้วทิ้งให้แยกชั้น
- 3) ใช้ pasteur pipettes ดูดส่วนบน (ส่วนใส) ใส่ขวดก้นกลม สกัดซ้ำด้วย petroleum ether 5 มิลลิลิตร 4 ครั้ง และแยกส่วนใสใส่ขวดก้นกลมใบเดิม
- 4) นำสารละลายที่สกัดได้ไประเหยแห้งด้วย rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ประมาณ 3 นาที

1.2.5 การตรวจวัดปริมาณคอเลสเทอรอล

ก. นำขวดก้นกลมที่ทำการระเหยแห้งแล้วทั้งตัวอย่างไข่แดง และสารละลายคอเลสเทอรอลมาตรฐานมาเติม DMF 3 มิลลิลิตร เพื่อละลายส่วนที่เหลือจากการระเหยออก และเขย่าให้เข้ากันประมาณ 30 วินาที

ข. คูณสารละลายที่ละลายด้วย DMF ออกมา 1 มิลลิลิตร ใส่ใน silanized test tubes

ค. เติม HMDS 0.4 มิลลิลิตร และ TMCS 0.2 มิลลิลิตร ในทุกหลอด และปิดฝาหลอดทดลองให้แน่น เขย่าอย่างแรงประมาณ 30 วินาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที

ง. เติมสารละลาย 5α -cholestane มาตรฐาน 1 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองทุกหลอด เขย่าอย่างแรงประมาณ 1 นาที

จ. ดูดส่วนใสด้านบนใส่ในขวดขนาดเล็ก (vial) ประมาณ 1 มิลลิลิตร เพื่อเก็บไว้ฉีดเข้าเครื่อง gas chromatograph

ฉ. ฉีดส่วนที่สกัดเสร็จแล้วของสารละลายมาตรฐาน 1 ไมโครลิตร เข้าเครื่อง gas chromatograph เพื่อทำการหาปริมาณ และหาค่า response factor (RF)

ช. ฉีดส่วนที่สกัดเสร็จแล้วของตัวอย่างไขแดง 1 ไมโครลิตร เข้าเครื่อง gas chromatograph เทียบกับสารมาตรฐาน เพื่อหาคอเลสเตอรอลในไขแดง

1.2.6 การคำนวณ

$$\text{Response Factor (RF)} = \frac{\text{พื้นที่ของคอเลสเตอรอล}}{\text{พื้นที่ของ } 5\alpha\text{-cholestane} \times \text{น้ำหนักเนื้อสาร (มิลลิกรัม)}} \quad (\text{standard})$$

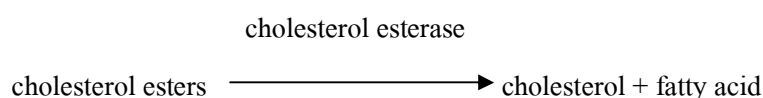
$$\text{ปริมาณคอเลสเตอรอล} = \frac{\text{พื้นที่ของคอเลสเตอรอลในตัวอย่าง}}{\text{พื้นที่ของ } 5\alpha\text{-cholestanexRF} \times \text{น้ำหนักในไขแดง (กรัม)}} \quad (\text{มิลลิกรัมต่อกรัมไขแดง})$$

2. การวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอลในพลาสมา

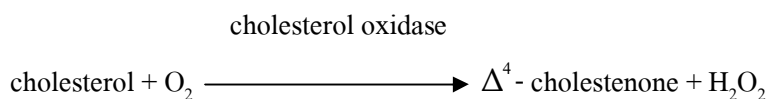
2.1 หลักการ

วิเคราะห์คอเลสเตอรอล ใช้เอนไซม์ 3 ชนิด โดยมีปฏิกิริยา ดังนี้

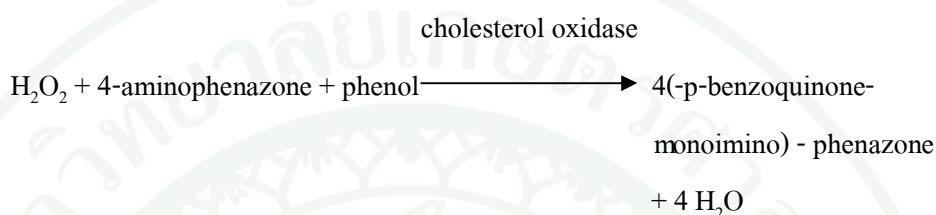
2.1.1 ปฏิกิริยาที่ 1 ใช้เอนไซม์ cholesterol esterase ในการย่อยสลายพันธะ cholesterol ester ในพลาสมาไปเป็นคอเลสเตอรอลอิสระ



2.2.2 ปฏิกิริยาที่ 2 ออกซิโดซ์คอเลสเตอรอลให้ได้ hydrogenperoxide (H_2O_2) โดยมีเอนไซม์ cholesterol oxidase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา



2.2.3 hydrogenperoxide (H_2O_2) จะไปออกซิไดซ์ 4-aminophenazone และ phenol ให้สารเชิงซ้อน สีชมพูคือ 4 (-P-) เบนโซควิโนน โมโนอิมิโนฟีนาโซน โดยมีเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา



2.2 สารเคมี

ใช้ชุดตรวจสำเร็จรูป cholesterol liquicolor (Human, Germany)

2.3 วิธีวิเคราะห์

2.3.1 เปิดเครื่องมือวัดการดูดกลืนแสง ตั้งค่าดูดกลืนแสงที่ 500 นาโนเมตรอุ่นเครื่องไว้ นาน 30 นาที

2.3.2 ทำ blank โดยใช้ น้ำยาปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่นปริมาตร 0.01 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที โดยใช้ blank ปรับค่าเป็นศูนย์

2.2.3 วัดตัวอย่างพลาสมา โดยสารละลายมาตรฐานคอเลสเตอรอลปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากับพลาสมาปริมาตร 0.01 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร

2.3.4 อ่านค่าคอเลสเตอรอลจากสูตรคำนวณ ดังนี้

$$\text{คอเลสเตอรอล} = \frac{\text{ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่าง} \times \text{ความเข้มข้นคอเลสเตอรอลมาตรฐาน}}{\text{ค่าดูดกลืนแสงของคอเลสเตอรอลมาตรฐาน}}$$

3. การวิเคราะห์ปริมาณไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมา

3.1 หลักการ

วิเคราะห์คอเลสเตอรอล ใช้เอนไซม์ 4 ชนิด โดยมีปฏิกิริยาดังนี้

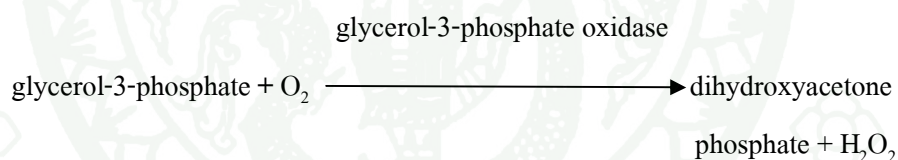
3.1.1 ปฏิกิริยาที่ 1 ใช้เอนไซม์ lipase ย่อยสลายไตรกลีเซอไรด์ได้ glycerol



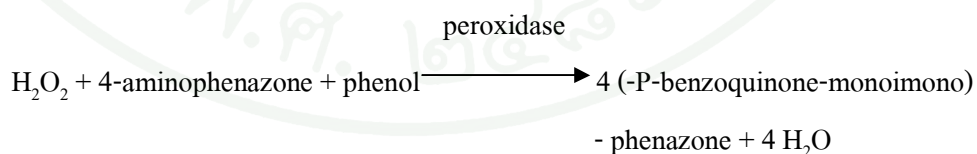
3.1.2 ปฏิกิริยาที่ 2 เติมฟอสเฟตให้กับกลีเซอรอลโดย ATP ซึ่งมีเอนไซม์กลีเซอรอลไคเนสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา



3.1.3 ปฏิกิริยาที่ 3 ออกซิไดซ์ glycerol-3-phosphate ให้ได้ hydrogenperoxide (H_2O_2) โดยมีเอนไซม์ glycerol-3-phosphate oxidase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา



3.1.4 ปฏิกิริยาที่ 4 hydrogenperoxide (H_2O_2) จะไปออกซิไดซ์ 4-aminophenazone และ phenol ให้สารเชิงซ้อนสีชมพู คือ 4 (-P-benzoquinone-monoimono)-phenazone โดยอาศัยเอนไซม์ peroxidase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา



3.2 สารเคมี

ใช้ชุดตรวจสำเร็จรูป triglyceride liquicolor (Human, Germany)

3.3 วิธีวิเคราะห์

3.3.1 เปิดเครื่องมือวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที

3.3.2 ทำ blank โดยใช้น้ำยาปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่นปริมาตร 0.01 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที ใช้ blank ปรับค่าเป็นศูนย์

3.3.3 วัดตัวอย่างพลาสมา โดยสารละลายมาตรฐาน ไตรกลีเซอไรด์ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากับพลาสมาปริมาตร 0.01 มิลลิลิตร ผสมด้วย vortex mixer ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร

3.3.4 อ่านค่าไตรกลีเซอไรด์จากสูตรคำนวณดังนี้

$$\text{ไตรกลีเซอไรด์} = \frac{\text{ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่าง} \times \text{ความเข้มข้นไตรกลีเซอไรด์มาตรฐาน}}{\text{ค่าดูดกลืนแสงของไตรกลีเซอไรด์มาตรฐาน}}$$

4. วิธีวิเคราะห์ความสามารถรวมของสารต้านอนุมูลอิสระในการรีดิวซ์เหล็กเฟอริกในตัวอย่างพลาสมาโดยวิธี ferric reducing ability of plasma (FRAP) assay

การเก็บตัวอย่างเลือด

1. เก็บเลือดโดยใช้สารป้องกันการแข็งตัวของเลือด คือ heparin
2. ปั่นด้วยความเร็ว 1,000 g นาน 10 นาที
3. ดูดส่วนของเหลวสีเหลือง (ส่วนบน) โดยปราศจากการรบกวนของ white buffy layer
4. ถ้ายังไม่ทำการวิเคราะห์ เก็บไว้ที่ -20°C

การเตรียมสารเคมี

FRAP reagent (ใช้อัตราส่วน 1.1:1.2:1.3 เท่ากับ 10:1:1)

1.1 300 mmol/liter acetate buffer pH 3.6 ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 3.1 กรัม + $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ 16 มิลลิลิตร + เติมน้ำให้ครบ 1 ลิตร)

1.2 10 mmol/liter TPTZ ใน 40 mmol/liter HCl

1.3 20 mmol/liter $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

วิธีการวิเคราะห์

1. งด FRAP reagent ปริมาตร 1800 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดขนาด 15 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 180 ไมโครลิตร
3. งดพลาสมาปริมาตร 60 ไมโครลิตร (ในปฏิกิริยาตัวอย่างต้องมีความเข้มข้น 1/34)
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 593 นาโนเมตร เทียบกับ standard ทุกๆ 15

วินาที นาน 10 นาที

5. นำค่า ที่ 4 นาที มาคำนวณหาความเข้มข้นเทียบกับ standard (Fe^{2+}) ที่ทราบความเข้มข้น

การรายงานผล

รายงานความสามารถรวมของสารต้านอนุมูลอิสระ เป็นไมโครโมลต่อลิตร

5. การวิเคราะห์ malondialdehyde (MDA) ด้วย วิธี thiobarbituric acid (TBA) assay

วิธีการ

- 5.1 งด TBA (3.7 กรัม/ลิตร ใน 0.25 โมล/ลิตร HCl) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่หลอด centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร
- 5.2 เติม 15% trichloroacetic acid (ใน 0.25 โมล/ลิตร HCl) ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร
- 5.3 เติม 0.5 M BHT ปริมาตร 50 ไมโครลิตร
- 5.4 เติมตัวอย่าง plasma, standard และ blank (deionized water) ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ใส่ลงในแต่ละหลอด
- 5.5 ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer แล้วต้มที่อุณหภูมิ 95 °C นาน 1 ชั่วโมง
- 5.6 ทำให้เย็นโดยแช่น้ำเย็น นาน 5 นาที เติม n-butanol and pyridine (15:1 v/v) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร
- 5.7 นำไปปั่นด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,500 รอบต่อนาที นาน 10 นาที
- 5.8 งดส่วนชั้นบนปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ใส่ cuvette วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 และ 572 นาโนเมตร

การรายงานผล

รายงานผลความเข้มข้นของ malondialdehyde เป็น นาโนโมลต่อลิตร





ภาพผนวกที่ ค1 ลักษณะภายในโรงเรือนทดลอง



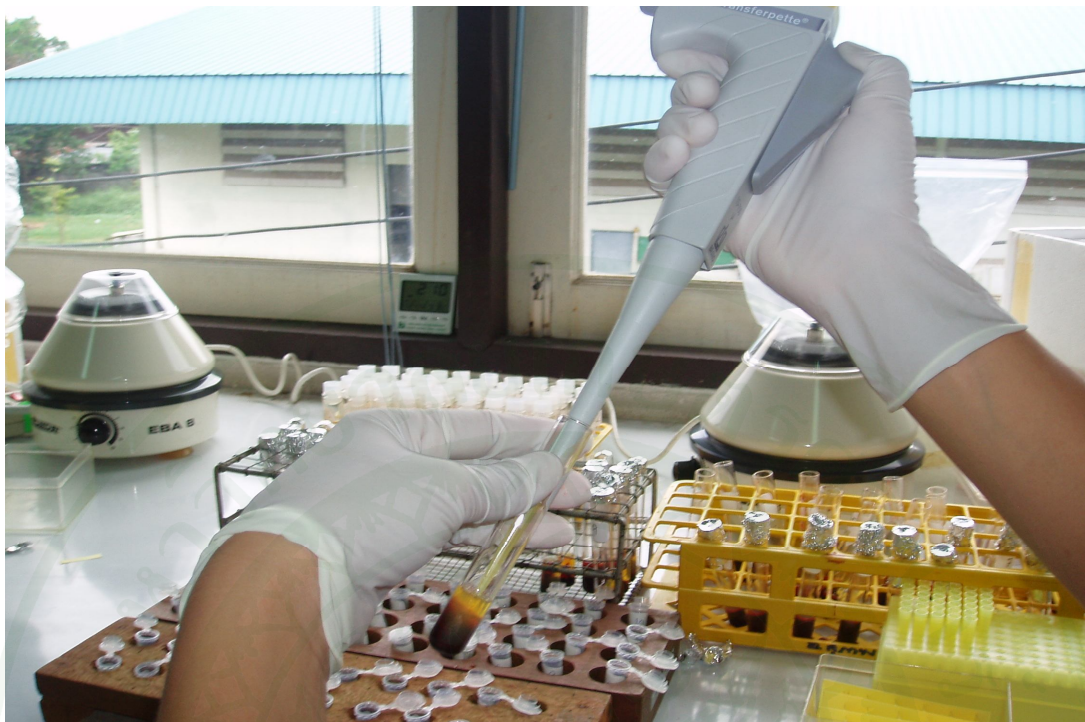
ภาพผนวกที่ ค2 เปรียบเทียบการเลี้ยงไก่ปกติ (3 ตัว/กรง) และแบบหนาแน่นกว่าปกติ (4 ตัว/กรง)



ภาพผนวกที่ ค3 การชั่งน้ำหนักไก่



ภาพผนวกที่ ค4 การเจาะเลือดไก่บริเวณเส้นเลือดดำ



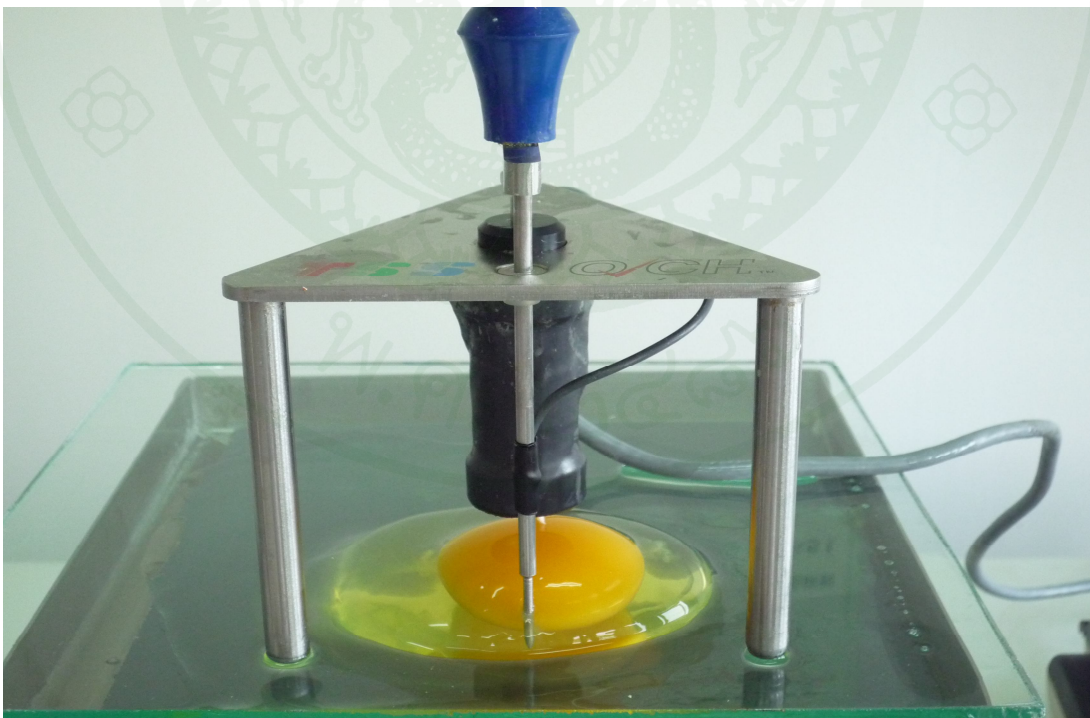
ภาพผนวกที่ ค5 การเก็บตัวอย่างพลาสมา



ภาพผนวกที่ ค6 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)



ภาพผนวกที่ ค7 การชั่งน้ำหนักไข่



ภาพผนวกที่ ค8 การวัดความสูงไข่ขาวโดยใช้เครื่อง albumen height gauge



ภาพผนวกที่ ค9 การเก็บตัวอย่างไข่แดง



ภาพผนวกที่ ค10 การระเหยแห้งโดยใช้เครื่อง rotary evaporator



ภาพผนวกที่ ค11 การชั่งน้ำหนักไข่แดง



ภาพผนวกที่ ค12 การอุ่นสารใน water bath



ภาพผนวกที่ ค13 เครื่อง GC (gas chromatograph)



ภาพผนวกที่ ค14 micro syringe



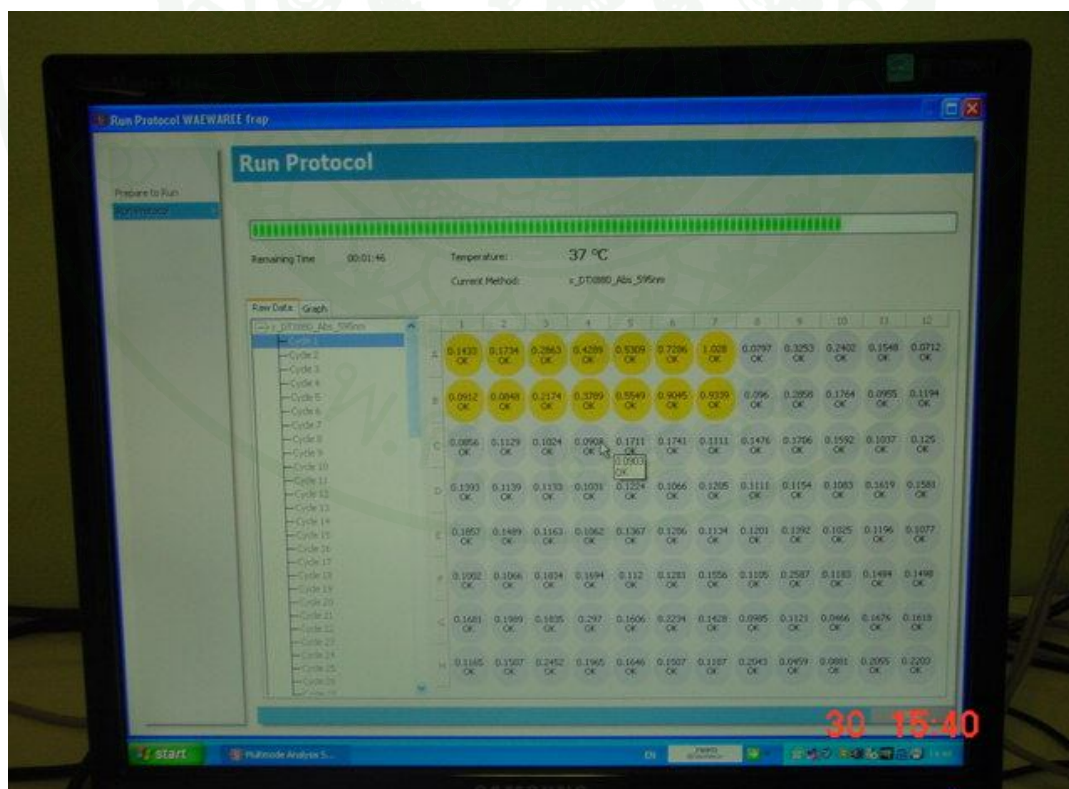
ภาพผนวกที่ ค15 การฉีดสารสกัดไข่แดง



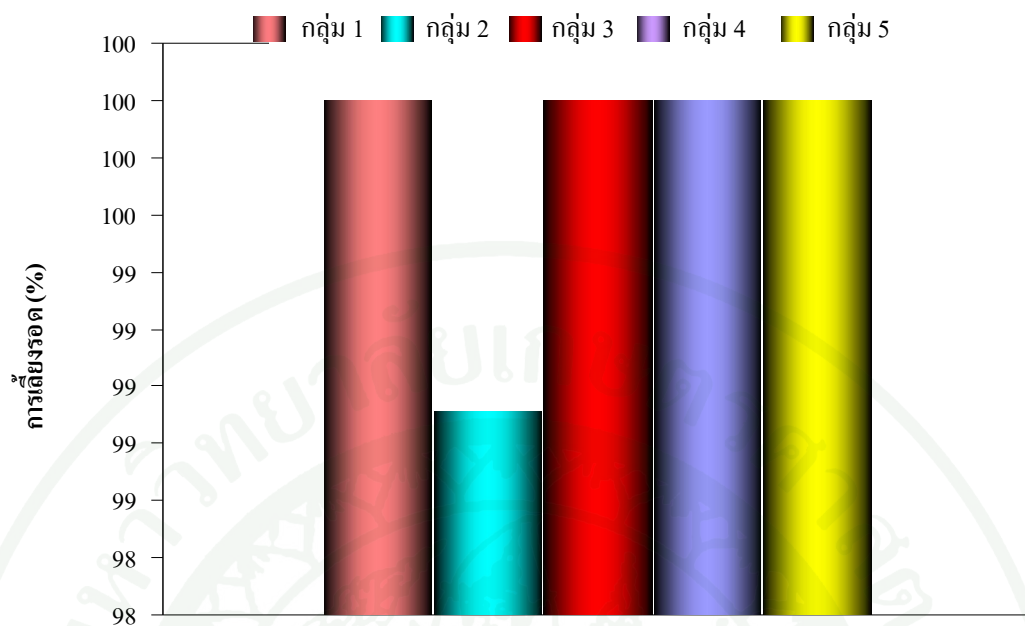
ภาพผนวกที่ ค16 จอประมวลผลเครื่อง GC



ภาพผนวกที่ ค17 เครื่อง multimode detector

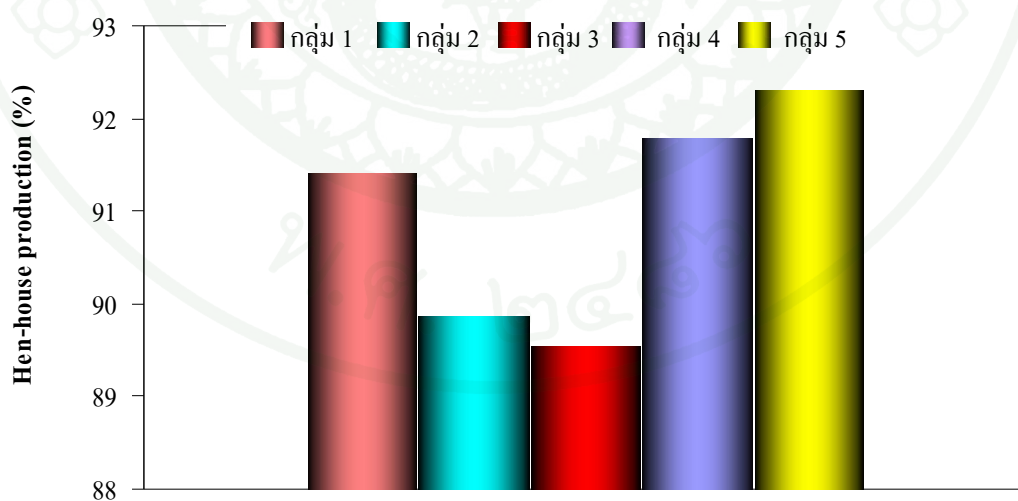


ภาพผนวกที่ ค18 จอประมวลผลเครื่อง multimode detector



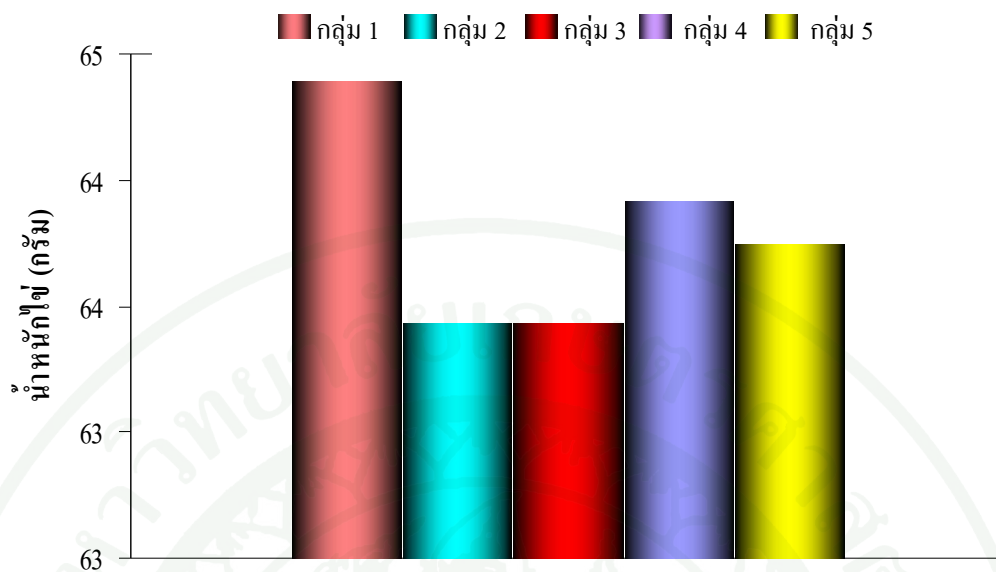
ภาพผนวกที่ ค19 เปอร์เซ็นต์การเลี้ยงรอดของแม่ไก่ช่วงอายุ 28-44 สัปดาห์ ที่ระดับนัยสำคัญ

$P < 0.01$

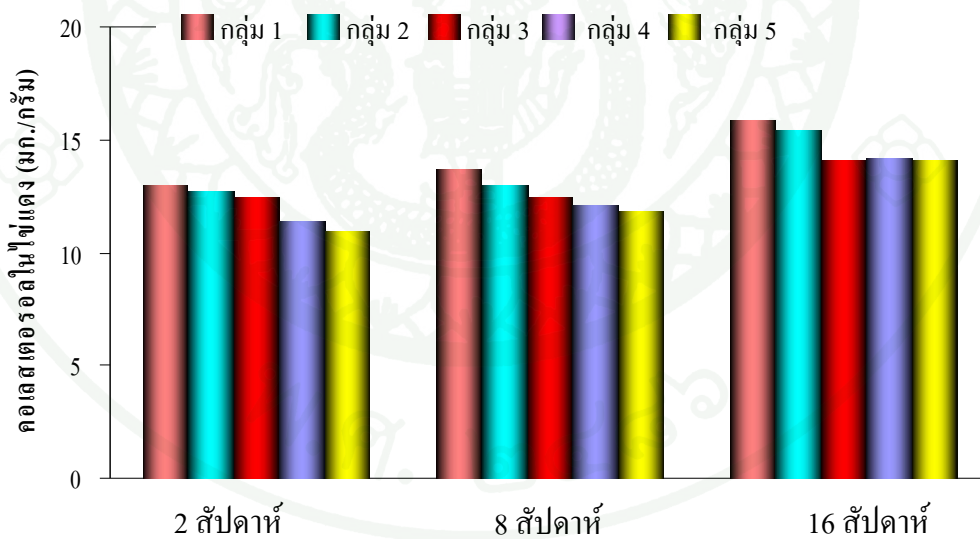


ภาพผนวกที่ ค20 เปอร์เซ็นต์ผลผลิตไข่ของแม่ไก่ช่วงอายุ 28-44 สัปดาห์ ที่ระดับนัยสำคัญ

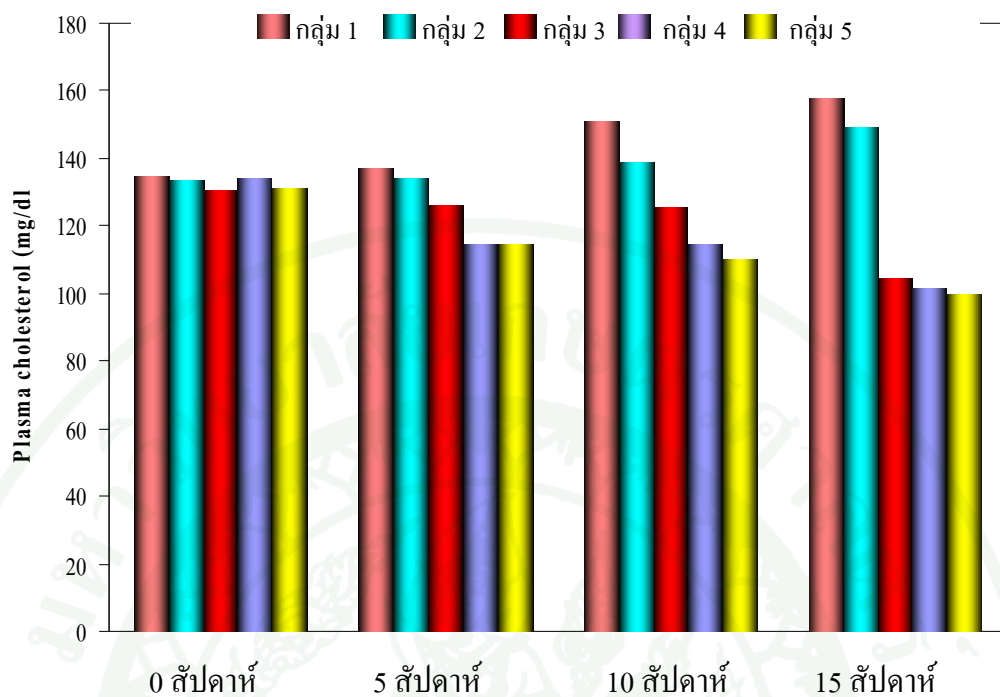
$P < 0.05$



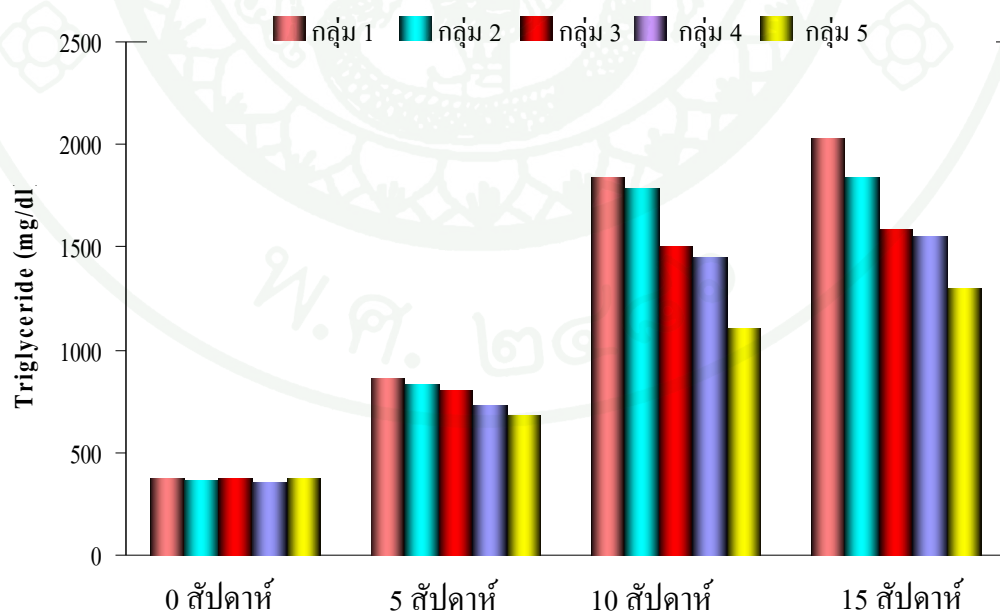
ภาพผนวกที่ ค21 นมแม่ของแม่ที่คลอดในช่วงอายุ 28-44 สัปดาห์ ที่ระดับนัยสำคัญ $P < 0.05$



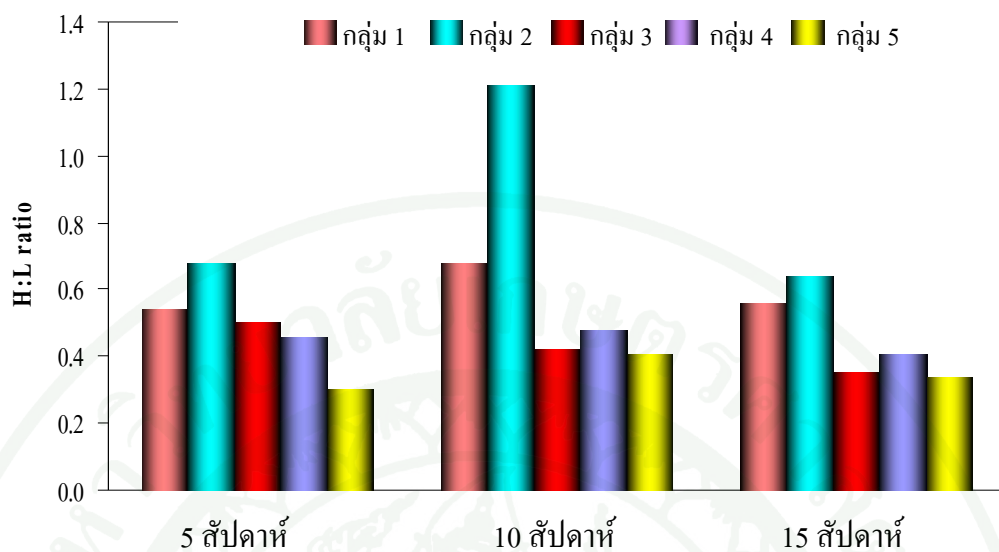
ภาพผนวกที่ ค22 คอเลสเตอรอลในไข่แดงของแม่ที่อายุการทดลองต่างๆ กัน ที่ระดับนัยสำคัญ $P < 0.01$



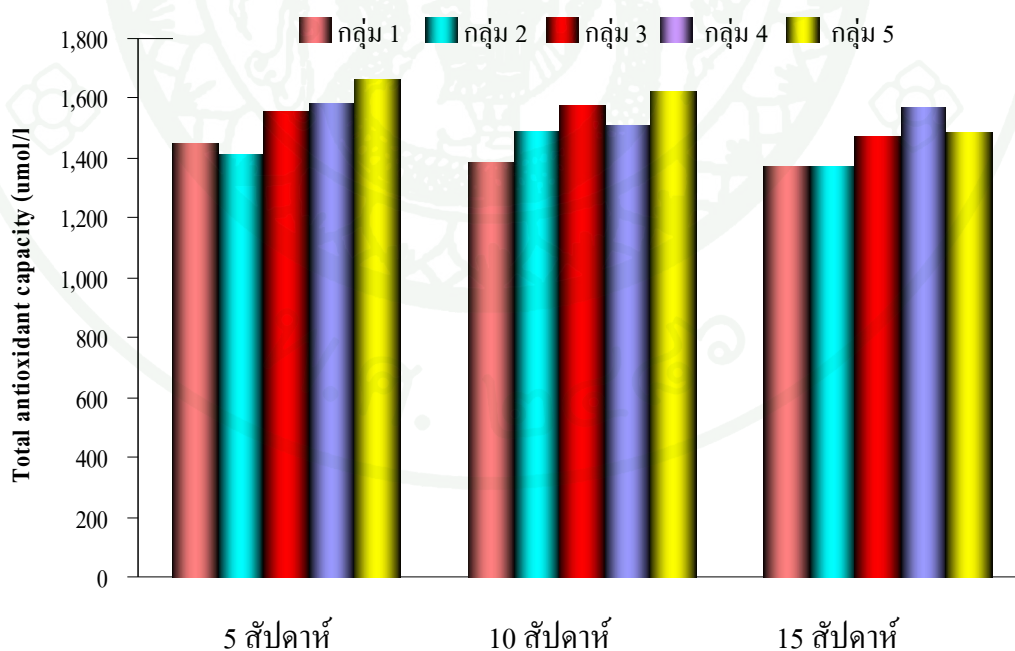
ภาพผนวกที่ ค23 คอเลสเตอรอลในพลาสมาของแม่ไก่ที่อายุการทดลองต่างๆ กัน



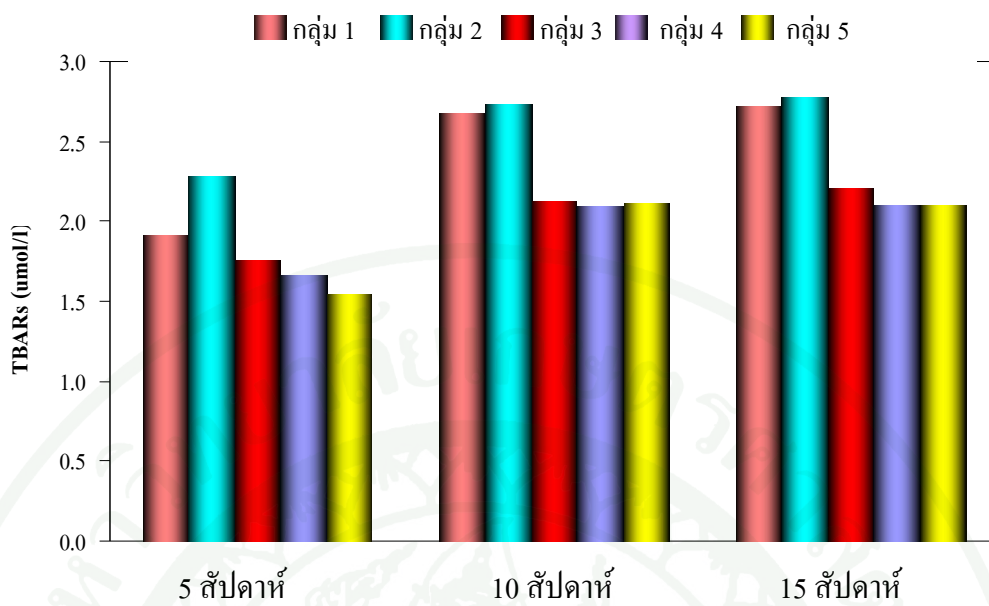
ภาพผนวกที่ ค24 ระดับไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมาของแม่ไก่ที่อายุการทดลองต่างๆ กัน



ภาพผนวกที่ ค25 ค่าสัดส่วนจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮมาโทโรฟิลล์ต่อลิมโฟไซต์ของแม่ไก่ที่อายุการทดลองต่างๆ กัน



ภาพผนวกที่ ค26 ค่าสารต้านอนุมูลอิสระรวมในพลาสมาของแม่ไก่ที่อายุการทดลองต่างๆ กัน



ภาพผนวกที่ ค27 ระดับการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมันในรูปของค่า TBARs ของแม่ไก่ที่อายุการทดลองต่างๆ กัน

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ – นามสกุล	นางสาวแหววรี บุญเทียม
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 18 ธันวาคม 2527
สถานที่เกิด	ตำบลไชยบุรี อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครพนม
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (ทรัพยากรเกษตรชีวภาพ) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	จากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ