ผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำ ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต คุณภาพเนื้อ และการสะสมพิวรีนในเนื้อไก่โคราช

นางสาวศิริพร ชัยสิทธิ์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ปีการศึกษา 2562

EFFECT OF LOW PURINE DIETS ON GROWTH PERFORMANCE, MEAT QUALITY AND PURINE ACCUMULATION IN KORAT CHICKEN MEAT

Siriporn Chaiyasit

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree Master of Science in Animal Production Technology

Suranaree University of Technology

Academic Year 2019

ผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำ ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต คุณภาพเนื้อ และการสะสมพิวรีนในเนื้อไก่โคราช

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(ผศ. นสพ. ดร.ภคนิจ คุปพิทยานันท์)
ประธานกรรมการ

(ผศ. ดร.สุทิศา เข็มผะกา)
กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์)

(ผศ. ดร.วิทธวัช โมพี)
กรรมการ

(รศ. ดร.อมรรัตน์ โมพี)
กรรมการ

(รศ. ร.อ. ดร.กนต์ธร ชำนิประศาสน์)
รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการและพัฒนาความเป็นสากล

(ศ. ดร.หนึ่ง เตียอำรุง)
คณบดีสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ศิริพร ชัยสิทธิ์ : ผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำ ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต คุณภาพเนื้อ และการสะสมพิวรีนในเนื้อไก่โคราช (EFFECT OF LOW PURINE DIETS ON GROWTH PERFORMANCE, MEAT QUALITY AND PURINE ACCUMULATION IN KORAT CHICKEN MEAT) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุทิศา เข็มผะกา, 91 หน้า.

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาปริมาณพิวรีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ สำหรับใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการคัดเลือกวัตถุดิบที่มีคุณสมบัติเหมาะสมต่อการนำมาประกอบสูตรอาหารพิวรีนต่ำ และศึกษาผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีน และเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ในอาหารไก่โคราชต่อการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ สมรรถนะการเจริญเติบโต ลักษณะซาก คุณภาพเนื้อ และปริมาณพิวรีนที่สะสมในเนื้อ โดยแบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือ

ส่วนที่ 1 เป็นการศึกษาปริมาณพิวรีน และอนุพันธ์พิวรีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ โดยผลการศึกษาพบว่าวัตถุดิบอาหารสัตว์แหล่งพลังงาน เช่น ข้าวโพด มันสำปะหลัง และรำข้าว จัดอยู่ในกลุ่มที่มีพิวรีนต่ำหรือต่ำมาก โดยมีปริมาณพิวรีนน้อยกว่า 50 mg/100 g ในขณะที่วัตถุดิบอาหารสัตว์แหล่งโปรตีน เช่น เนื้อป่น และกากถั่วเหลือง จัดอยู่ในกลุ่มที่มีพิวรีนปานกลาง พบว่ามีพิวรีนอยู่ในช่วง 100-200 mg/100 g

ส่วนที่ 2 เป็นการศึกษาการใช้สูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนในอาหารและเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ ใช้ไก่โคราชคละเพศอายุ 1 วัน จำนวน 480 ตัว โดยแบ่งไก่ออกเป็น 4 กลุ่มๆ ละ 6 ซ้ำๆ ละ 20 ตัว ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ อาหารทดลองมี 4 กลุ่ม ได้แก่ สูตรควบคุม (T1) สูตรอาหารพิวรีนต่ำ (ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 15%; T2) สูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนลง 1.5% (พิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 30%; T3) และสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนต่ำลง 3.0% (พิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 45%; T4) โดยให้อาหารและน้ำอย่างเต็มที่ เลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่าการลดพิวรีนในสูตรอาหารทุกระดับ (15, 30 และ 45% จากกลุ่มควบคุม) ไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต คุณภาพซาก และคุณภาพเนื้อในทั้งสองช่วงอายุ (9 และ 12 สัปดาห์) ($P>0.05$) อย่างไรก็ตามการลดพิวรีนในสูตรอาหารลงถึง 45% มีผลทำให้มีการสะสมไขมันในช่องท้องของไก่โคราชอายุ 12 สัปดาห์เพิ่มขึ้น ($P<0.05$) อาหารทดลองทุกกลุ่มไม่มีผลกระทบต่อการย่อยได้ของสิ่งแห้งและสารอินทรีย์ ในขณะที่ค่าการใช้ประโยชน์ได้ของไนโตรเจนเพิ่มขึ้นตามระดับการลดลงของพิวรีนในสูตรอาหาร นอกจากนี้ปริมาณกรดยูริกในเซรั่มและในมูลมีค่าลดลงในไก่ที่ได้รับอาหารพิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่ 45% ($P<0.05$) การลดพิวรีนในอาหารทุกระดับไม่มีผลกระทบต่อองค์ประกอบทางเคมี (ความชื้น โปรตีน เถ้า และไขมัน) ของเนื้อส่วนอก และส่วนสะโพก ($P>0.05$) ถึงแม้ว่าการลดพิวรีนในอาหารลง 45% จะสามารถลดการสะสมไฮโปแซนทีน และพิวรีนทั้งหมดในเนื้ออกลงได้ 10.73% และ 10.29% (อายุ 9 สัปดาห์)

และ 2.15% และ 5.78% (อายุ 12 สัปดาห์) ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างดังกล่าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) นอกจากนี้ยังพบว่าไก่โคราชที่ได้รับอาหารพิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุมถึง 45% ก็ไม่ส่งผลกระทบต่อค่าอิโนซีนโมโนฟอสเฟต (IMP) ที่สะสมในเนื้อ (P>0.05)

ภาพรวมจากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า อาหารพิวรีนต่ำทุกระดับไม่มีผลในการเปลี่ยนแปลงการสะสมพิวรีน และค่า IMP ในเนื้อ ซึ่งอาหารพิวรีนต่ำ 30% จากกลุ่มควบคุม อาจมีความเหมาะสมสำหรับไก่โคราชในแง่ของสมรรถนะการเจริญเติบโต คุณภาพเนื้อ และคุณภาพโดยซาก

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางสัตว์ ลายมือชื่อนักศึกษา_____

ปีการศึกษา 2562 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม_____

SIRIPORN CHAIYASIT : EFFECT OF LOW PURINE DIETS ON GROWTH PERFORMANCE MEAT QUALIT, AND PURINE ACCUMULATION IN KORAT CHICKEN MEAT. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. SUTISA KHEMPAKA, Ph.D., 91 PP.

PURINE/URIC ACID/PROTEIN/PURINE ACCUMULATION/KORAT CHICKEN

This study aimed to investigate the purine content in feedstuffs for use as preliminary information in order to select the raw materials that are suitable for the low purine feed formulation and to study the effect of low purine concurrent with the reduced protein levels and supplement with synthetic amino acids on nutrient digestibility and retention, growth performance, carcass traits, meat quality and purine accumulation in Korat chicken meat. The study was divided into two parts.

Part 1 was to investigate the purine and purine derivative contents in feed ingredients. The results showed that the energy feed sources such as corn, cassava and rice bran can be classified as low or very low purine groups, which contained purines less than 50 mg/100 g. While protein sources such as meat meal and soybean can be classified as moderate purine groups, which contained purines 100-200 mg/100 g.

Part 2 was to evaluate the effect of low purine and low protein diets supplemented with synthetic amino acids on growth performance, meat quality and purine accumulation in Korat chicken meat. A total of 480 one-day-old Korat chickens were allocated to 4 groups in 6 replicate pens with 20 chicks each based on a Completely Randomized Design (CRD). Four dietary treatments were given as follows: T1: control, T2: purine reduction by 15% as compared to T1, T3: purine reduction by 30% as compared to T1 (reduced 1.5% of CP), and T4: purine reduction

by 45% (reduced 3.0% of CP). Feed and water were provided ad libitum for 12 weeks. The results revealed that all lower purine diets (reduced 15 30 and 45% as compared to the control) showed no negative effects on growth performance, carcass and meat qualities in both periods (9 and 12 weeks of age) ($P>0.05$). However, the reduction of up to 45% of purines with the diet increased abdominal fat in Korat chickens aged 12 weeks as compared to the control ($P<0.05$). All experimental diets showed no significant effects on dry matter and organic matter digestibility, while the nitrogen retention increased as the purine contents were reduced. In addition, in birds received diets in the reduction of purines of up to 45% with the diet as compared to the control also results in a significant reduction of serum and excreta uric acids ($P<0.05$). All low purine diets showed no significant effects on nutrient compositions (moisture, crude protein, ash and fat) of breast and thigh meats ($P>0.05$). Although, the reduction of up to 45% of purines with the diet can reduce the hypoxanthine and total purine accumulation in breast meat approximately 10.73% and 10.29% (aged 9 weeks) and 2.15% and 5.78% (aged 12 weeks), respectively, there were no significant differences among treatments ($P>0.05$). In addition, it also revealed that feeding Korat chickens with low dietary purine diets up to 45% as compared to the control showed no negative effect on Inosine monophosphate (IMP) accumulation in meat.

Overall, it is indicated that all dietary purine levels did not change the purine and IMP accumulations in meat. The reduction of purines in diets up to 30% may be suitable for Korat chickens in terms of growth performance, carcass and meat qualities.

School of Animal Technology and Innovation Student's Signature Simporn Chaiyasit

Academic Year 2019 Advisor's Signature Sutisa Khempaka

Co-advisor's Signature W. Molee

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จได้ด้วยดี ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุทิศา เข็มผะกา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิทธวัช โมพี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำ และช่วยสนับสนุนงานด้านการทดลองตลอดระยะเวลาของการศึกษา รวมทั้งกรุณาแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ และช่วยทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางสัตว์ ตลอดจนอาจารย์ผู้สอนทุกท่านที่อบรมสั่งสอน และให้ความรู้ทางด้านวิชาการที่เป็นประโยชน์จนสำเร็จการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ งานสัตว์ปีกฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ดำเนินงานวิจัย และคำแนะนำในการดูแลไก่โคราช ตลอดจนบุคลากรฟาร์มมหาวิทยาลัยทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือการทำวิจัยตลอดมา และขอขอบคุณบริษัทไทยร่วมใจโคราช จำกัด ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์น้ำมันรำข้าว

ขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 3 10 และ 14 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี รวมทั้งบุคคลากร และเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์อำนวยความสะดวกให้คำแนะนำและความช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือ และอุปกรณ์ต่างๆ ในการทำวิจัย

ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ สาขาวิชาเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางสัตว์ ที่ให้ความช่วยเหลือระหว่างการดำเนินงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และญาติพี่น้องทุกท่านที่คอยให้กำลังใจให้การสนับสนุน และช่วยเหลือจนประสบความสำเร็จในการศึกษา

ศิริพร ชัยสิทธิ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย) ..... ก

บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ) ..... ค

กิตติกรรมประกาศ ..... จ

สารบัญ ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญภาพ ..... ฎ

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ ..... ฎ

บทที่

1 บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2

1.3 สมมติฐานของการวิจัย 3

1.4 ขอบเขตของการวิจัย 3

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

2 ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โรคเกาต์ และอุบัติการณ์ของโรคเกาต์ในประเทศไทย 4

2.2 กรดยูริก และสาเหตุการเกิดกรดยูริก 4

2.3 ที่มา และกระบวนการสังเคราะห์พิวรีน 12

2.4 กระบวนการสังเคราะห์พิวรีนและการสลายของพิวรีน 13

2.5 ความเป็นไปได้ของการลดพิวรีน และกรดยูริกในเนื้อไก่ 14

3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การทดลองที่ 1: ศึกษาปริมาณพิวรีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ 25

3.1.1 การเตรียมตัวอย่างวัตถุดิบ 25

3.1.2 การคัดเลือกวัตถุดิบอาหารสัตว์ 25

3.1.3 สถานที่ทำการทดลอง 25

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.1.4 ระยะเวลาทำการทดลอง 25
3.2 การทดลองที่ 2: ศึกษาผลของการใช้สูตรอาหารพิวรีนต่ำต่อ สมรรถนะการเจริญเติบโตคุณภาพเนื้อและการสะสมพิวรีนในไก่โคราช 25
3.2.1 สัตว์ทดลอง 25
3.2.2 อาหารทดลอง 25
3.2.3 การเก็บข้อมูล 27
3.2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 33
3.2.5 สถานที่ทำการทดลอง 33
3.2.6 ระยะเวลาการทดลอง 33
4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง
4.1 ผลการศึกษาปริมาณพิวรีน และอนุพันธ์พิวรีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ 34
4.2 ผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตคุณภาพซาก คุณภาพเนื้อ และการสะสมพิวรีนในเนื้อของไก่โคราช 35
4.2.1 ผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต 35
4.2.2 ผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ต่อการย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในไก่โคราช 38
4.2.3 ผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ต่อค่าทางชีวเคมีในเลือดของไก่โคราช 39
4.2.4 ผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีน และเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ต่อคุณภาพซากของไก่โคราช 41
4.2.5 ผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีน และเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ต่อการสะสมพิวรีน และอิโนซีนมอนอฟอสเฟส (IMP) ในเนื้อส่วนอกและเนื้อสะโพกของไก่โคราช 43
5 สรุปและข้อเสนอแนะ 53

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

5.1 สรุป 55
5.2 ข้อเสนอแนะ 56
รายการอ้างอิง 57
ภาคผนวก 65
ประวัติผู้เขียน 91

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 ปริมาณพิวรีน และกรดยูริกในเนื้อสัตว์ (mg/ 100 g) 6
2.2 การจำแนกกรดอะมิโนที่จำเป็น และไม่จำเป็นของสัตว์ปีก 11
2.3 ปริมาณพิวรีน และอนุพันธ์พิวรีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ (mg/100 g) 17
2.4 การศึกษาระดับของโปรตีนในอาหารร่วมกับกรดอะมิโนสังเคราะห์ต่อสมรรถนะ การเจริญเติบโตของไก่เนื้อ 19
2.5 ผลของสูตรอาหารร่วมกับกรดอะมิโนสังเคราะห์ต่อระดับกรดยูริกของไก่เนื้อ 20
3.1 ส่วนประกอบของสูตรอาหารไก่โคราชช่วงอายุ 0 ถึง 12 สัปดาห์ 28
4.1 ปริมาณพิวรีน และอนุพันธ์พิวรีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ (mg/100 g) 35
4.2 ผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ต่อสมรรถนะ การเจริญเติบโตของไก่โคราช (0 ถึง 12 สัปดาห์) 37
4.3 ผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ต่อการย่อยได้และ การใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในไก่โคราช 39
4.4 ผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ต่อซีรั่มกรดยูริก และในมูลของไก่โคราช 40
4.5 ผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนและเสริมกรดอะมิโน สังเคราะห์ต่อคุณภาพซากของไก่โคราช 44
4.6 ผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนและเสริมกรดอะมิโน สังเคราะห์ต่อคุณภาพเนื้ออกของไก่โคราช 45
4.7 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้ออก และสะโพกไก่โคราช ช่วงอายุ 9 และ 12 สัปดาห์ (% of g fresh meat) 46
4.8 ผลของการใช้สูตรอาหารพิวรีนต่ำ ต่อปริมาณการสะสมพิวรีนในเนื้ออกของไก่โคราช ช่วงอายุ 9 และ 12 สัปดาห์ 50
4.9 ผลของการใช้สูตรอาหารพิวรีนต่ำ ต่อปริมาณการสะสมพิวรีนในเนื้อสะโพกของ ไก่โคราช ช่วงอายุ 9 และ 12 สัปดาห์ 51

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

4.10 ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกรดยูริกในซีรั่ม และพิวรีนและอนุพันธ์ของพิวรีนในเนื้ออกไก่โคราช ที่อายุ 9 สัปดาห์ 52
4.11 ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกรดยูริกในซีรั่ม และพิวรีนและอนุพันธ์ของพิวรีนในเนื้อสะโพกไก่โคราช ที่อายุ 9 สัปดาห์ 52
4.12 ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกรดยูริกในซีรั่ม และพิวรีนและอนุพันธ์ของพิวรีนในเนื้ออกไก่โคราช ที่อายุ 12 สัปดาห์ 53
4.13 ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกรดยูริกในซีรั่ม และพิวรีนและอนุพันธ์ของพิวรีนในเนื้อสะโพกไก่โคราช ที่อายุ 12 สัปดาห์ 53
4.14 ผลของการใช้สูตรอาหารพิวรีนต่ำ ต่อปริมาณนิวคลีโอไทด์ในเนื้ออกและสะโพกของไก่โคราช 54

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 ภาพรวมกระบวนการเมแทบอลิซึมพิวรีนและผลผลิตกรดยูริก 5
2.2 การเปรียบเทียบปริมาณพิวรีนในเนื้ออก และสะโพกของไก่ที่แตกต่างกัน 3 สายพันธุ์ 8
2.3 การย่อย และการดูดซึมอาหารกรดนิวคลีอิก 9
2.4 กระบวนการแคทาบอลิซึมของกรดอะมิโนในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม 10
2.5 การกำจัดของเสียที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ 12
2.6 โครงสร้างของพิวรีน และอนุพันธ์ของพิวรีนชนิดต่างๆ 12
2.7 แหล่งกำเนิดอะตอมไนโตรเจน (N) และคาร์บอน (C) ของวงแหวนเบสพิวรีน 13
2.8 กระบวนการเมแทบอลิซึม และแคทาบอลิซึมของพิวรีนนิวคลีโอไทด์ 16
2.9 ผลของการเสริมกรดอิโนซินในอาหารต่อจากการสะสมของอิโนซีนโมโฟอสเฟต ในเนื้อไก่ 23
2.10 ผลของความแตกต่างของสารเสริมอาหารนิวคลีโอไทด์ต่อความเข้มข้นของ IMP ในเนื้ออก (a) และรสอูมามิในเนื้ออกของไก่เนื้อ (b) 23

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

A	=	Adenine
AMP	=	Adenosine monophosphate
APRT	=	Adenine phosphoribosyl transferase
Br	=	Breast
BUN	=	Blood urea nitrogen
BWG	=	Body weight gain
CP	=	Crude protein
CRD	=	Complete randomized design
DDGS	=	Dry distillers' grains with soluble
DM	=	Dry matter
EAA	=	Essential amino acid
FCR	=	Feed conversion ratio
FI	=	Feed intake
G	=	Guanine
GMP	=	Guanosine monophosphate
H	=	Hypoxanthine
HGPRT	=	Hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase
HPLC	=	High performance liquid chromatography
IMP	=	Inosine monophosphate
ME	=	Metabolizable energy
PRPP	=	5-Phosphoribosyl-1-pyrophosphate
Th	=	Thigh
U	=	Uric acid
X	=	Xanthine

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เนื้อไก่เป็นอาหารที่มีโปรตีนสูง ไขมันต่ำ ย่อยได้ง่าย อีกทั้งราคาถูก จึงเป็นที่นิยมในกลุ่มผู้บริโภคทุกเพศทุกวัย แต่อย่างไรก็ตามเนื้อไก่มีปริมาณพิวรีนค่อนข้างสูง จึงเป็นข้อจำกัดสำหรับผู้บริโภคบางกลุ่ม เช่น กลุ่มคนที่เป็นโรคเกาต์หรือคนที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเกาต์ โดยมีสาเหตุมาจากกรดยูริก (uric acid) ในเลือดสูง ซึ่งเกิดจากการกระบวนการสลายสารพิวรีน (Kanbay et al., 2010; Forconil et al., 2014; Perz-Ruiz et al., 2015) ทำให้เกิดการตกผลึกของกรดยูริกในข้อต่างๆ จึงเป็นผลให้มีอาการอักเสบ ปวด บวมแดงตามข้อ นอกจากนี้กรดยูริกสูงยังมีความสัมพันธ์ต่อความผิดปกติของร่างกายซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงทำให้เกิดโรคอื่นๆ เช่น โรคความดันโลหิตสูง โรคหัวใจ และโรคไต เป็นต้น (Fox IH. 1981; Choi et al., 2004; Poelzer et al., 2004; Kanbay et al., 2010; Perz-Ruiz et al., 2015) ไก่โคราชเป็นไก่เนื้อลูกผสมพื้นเมืองระหว่างไก่พ่อพันธุ์เหลืองหางขาว และไก่แม่พันธุ์ มทส ซึ่งปัจจุบันนี้มีการเลี้ยงไก่โคราชเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยเนื้อไก่โคราชกำลังเป็นที่ต้องการของตลาด ผู้บริโภคที่ให้ความสำคัญกับอาหารเพื่อสุขภาพ และความอร่อยของเนื้อไก่ เนื่องจากเนื้อไก่โคราชมีจุดเด่นคือ มีความเหนียวนุ่ม มีปริมาณโปรตีน และคอลลาเจนสูง และมีไขมันต่ำ ดังนั้นการศึกษาเพื่อหาแนวทางในการลดสารพิวรีนในเนื้อไก่โคราช จึงเป็นประเด็นที่น่าสนใจ นอกจากเป็นการเปิดโอกาสให้กับผู้บริโภคเหล่านี้ สามารถทานเนื้อไก่ได้เพิ่มขึ้นแล้ว ยังเป็นการเพิ่มคุณสมบัติเชิงหน้าที่ (function meat) และยังเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มในเนื้อไก่อีกด้วย

สารพิวรีน (purine) เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของนิวคลีโอไซด์ นิวคลีโอไทด์ และกรดนิวคลีอิก มีการจับคู่กับไพริมิดีน (pyrimidine) ในโมเลกุลของสารพันธุกรรม เช่น DNA และ RNA โดยสารพิวรีนประกอบด้วยอะดีนีน (adenine) และกวานีน (guanine) ไฮโปแซนทีน (hypoxanthine) และแซนทีน (xanthine) โดยพิวรีนเป็นสารที่ร่างกายสามารถสังเคราะห์ได้เองประมาณ 80% และอีกประมาณ 20% ได้รับจากอาหารในกระบวนการสลายสารพิวรีนในร่างกาย โดยการทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส (xanthine oxidase) จะทำให้เกิดกรดยูริกขึ้น (Kanbay et al., 2010; Forconil et al., 2014; Perz-Ruiz et al., 2015) ปัจจัยที่ทำให้เกิดพิวรีนในร่างกายมากกว่าปกติ นอกจากการได้รับจากอาหารแล้ว ยังเกิดจากความผิดปกติในการสังเคราะห์พิวรีนที่มากเกินไป และไตมีการขับกรดยูริกได้น้อยลง จากการรวบรวมเอกสารพบว่าแนวทางในการลดพิวรีนใน

เนื้อไก่มีโอกาสเป็นไปได้ 2 แนวทาง คือ 1) การลดระดับพิวรีนในสูตรอาหาร และ 2) การประกอบสูตรอาหารโปรตีนต่ำร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ เพื่อรักษาความสมดุลของกรดอะมิโน จากการรวบรวมเอกสาร พบว่าการใช้อาหารโปรตีนต่ำร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ สามารถลดกรดยูริกในเลือดและในมูลได้ โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโต (Swennen et al.,2005; Yamazaki et al., 2006; Namround et al., 2008; Ardekani et al., 2012) อย่างไรก็ตามการลดพิวรีนในสูตรอาหารอาจส่งผลกระทบต่อความอร่อย (umami) ของเนื้อโดยสารที่เกี่ยวข้องกับรสอร่อย คือ อิโนซีนโมโนฟอสเฟต (inosine monophosphate, IMP) กัวโนซีนโมโนฟอสเฟต (guanosine monophosphate, GMP) และกรดกลูตามิกอิสระ โดยอนุพันธ์พิวรีนที่มีบทบาทสำคัญที่จะส่งผลกระทบต่อความอร่อยของเนื้อมากที่สุดคือ ไฮโปแซนทีน ดังนั้นการคัดเลือกวัตถุดิบอาหารสัตว์เพื่อประกอบสูตรอาหารโดยพิจารณาจากเบสไฮโปแซนทีนเป็นหลัก น่าจะลดผลกระทบต่อความอร่อยของเนื้อลงได้ ซึ่งแหล่งของวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ใช้ในการประกอบสูตรอาหารสัตว์ปีกมีหลากหลายชนิด โดยแยกตามปริมาณของพิวรีนได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่คือ กลุ่มวัตถุดิบที่มีปริมาณพิวรีนสูงจะเป็นกลุ่มของโปรตีน เช่น กากถั่วเหลือง กากถั่วเหลืองไขมันเต็ม ปลาป่นหรือเนื้อป่น เป็นต้น และกลุ่มวัตถุดิบที่มีพิวรีนปริมาณต่ำจนถึงปานกลาง เช่น ข้าวโพด รำข้าว ข้าวสาลี ข้าวฟ่าง หรือมันสำปะหลัง เป็นต้น (Kaneko et al., 2014) ทั้งนี้เนื่องจากพิวรีนในร่างกายมาจากอาหาร 20% ดังนั้นหากสามารถประกอบสูตรอาหารพิวรีนต่ำสำหรับไก่โคราชโดยที่ไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และความอร่อยของเนื้อได้ ก็น่าจะเป็นการเพิ่มมูลค่า (value added) ของเนื้อไก่ได้อีกแนวทางหนึ่ง

ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาผลของการใช้สูตรอาหารพิวรีนต่ำในอาหารไก่โคราช โดยทำการศึกษาปริมาณพิวรีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการคัดเลือกใช้วัตถุดิบอาหารที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสมสำหรับการประกอบสูตรอาหาร และศึกษาผลของการใช้สูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต คุณภาพเนื้อ และการสะสมพิวรีนในเนื้อไก่โคราช

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อให้ทราบถึงชนิดของวัตถุดิบอาหารสัตว์พิวรีนต่ำที่ควรนำมาใช้ประกอบสูตรอาหารสำหรับไก่โคราช

1.2.2 เพื่อให้ทราบถึงผลของการใช้สูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนในอาหารและเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต คุณภาพเนื้อ และปริมาณพิวรีนที่สะสมในเนื้อไก่โคราช

1.3 สมมติฐานการวิจัย

การประกอบสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนในอาหาร และเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์น่าจะสามารถลดการสะสมพิวรีนในเนื้อไก่โคราชได้ โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตและคุณภาพเนื้อ

1.4 ขอบเขตของการศึกษา

การวิจัยนี้มุ่งเน้นเพื่อศึกษาหาปริมาณพิวรีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ เพื่อใช้เป็นข้อมูลสำหรับการประกอบสูตรอาหารพิวรีนต่ำ โดยศึกษาผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต คุณภาพเนื้อ และการสะสมพิวรีนในเนื้อไก่โคราช ในช่วงอายุ 0-12 สัปดาห์

1.5 ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

1.5.1 ทราบถึงปริมาณพิวรีนและกรดยูริกในวัตถุดิบอาหารสัตว์แต่ละชนิด

1.5.2 ทราบถึงความเป็นไปได้ในการใช้สูตรอาหารพิวรีนต่ำ เพื่อลดการสะสมพิวรีนในเนื้อไก่โคราช

1.5.3 เพิ่มคุณสมบัติเชิงหน้าที่ (functional meat) ของเนื้อไก่โคราช ที่จะสามารถสร้างมูลค่าทางเศรษฐกิจของเนื้อไก่ให้สูงขึ้น

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 2
ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โรคเกาต์ และอุบัติการณ์ของโรคเกาต์ในประเทศไทย

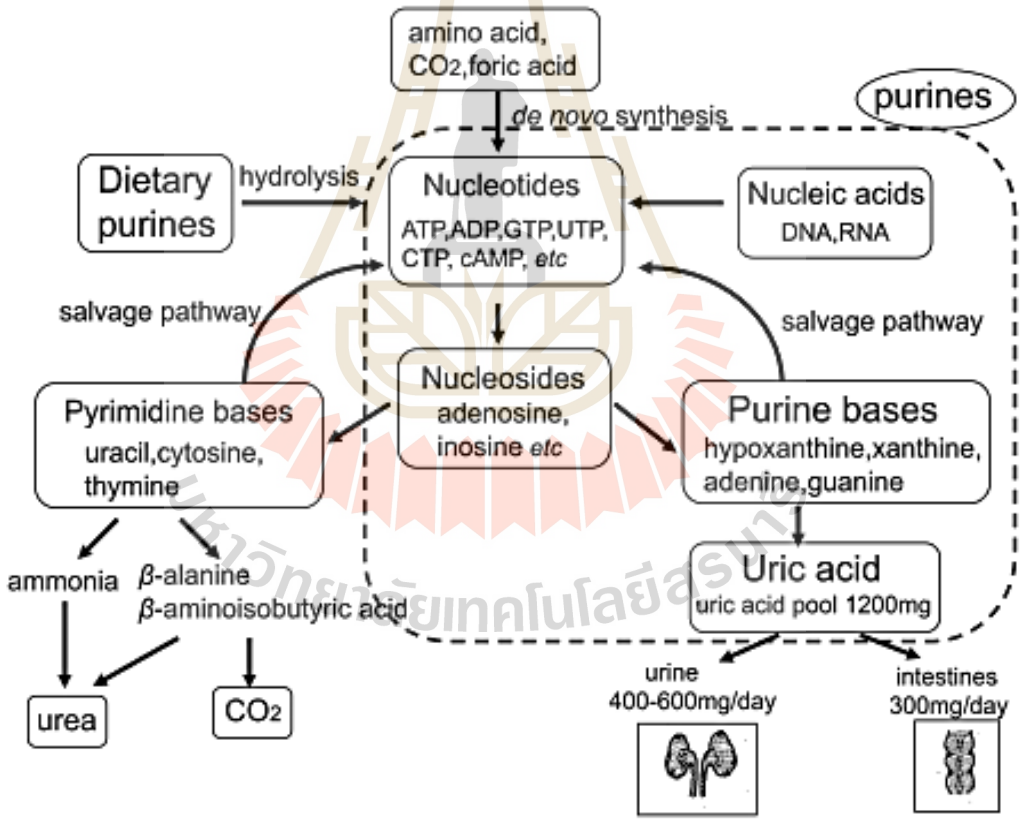
โรคเกาต์ (gout disease) เป็นโรคข้ออักเสบที่พบได้บ่อยที่สุดในมนุษย์ โดยเกิดจากความผิดปกติในกระบวนการเมแทบอลิซึมของกรดยูริกในร่างกาย เป็นผลให้กรดยูริกในเลือดมีค่าสูงกว่าปกติ และตกผลึกเป็นเกลือยูเรต (monosodium urate) สะสมในเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ของร่างกาย โดยเฉพาะบริเวณข้อและไต หรือบริเวณเนื้อเยื่อรอบๆ กระดูกทำให้มีอาการอักเสบ ปวด บวมแดง ของข้อ หากมีอาการเรื้อรังเป็นเวลานานจะทำให้รูปร่างกระดูกผิดปกติ (Cooper et al. 2006; Havroslav et al. 2010) นอกจากนั้นยังทำให้การทำงานของไตเสื่อม และเกิดโรคนิ่วที่ไต อีกทั้งยังเป็นสาเหตุของการเกิดโรคอื่น ๆ เช่น โรคความดันโลหิตสูง และโรคหัวใจ เป็นต้น (Choi et al. 2008; Kanbay et al. 2010; Yamaoka et al. 2010)

ปัจจุบันพบว่ามีจำนวนผู้ป่วยที่เป็นโรคเกาต์สูงขึ้นในแต่ละปี โดยมีความชุกของการเกิดโรคเกาต์โดยเฉลี่ยทั่วโลกมีประมาณร้อยละ 1 ถึง 4 ในขณะที่ประเทศไทยมีค่าเฉลี่ยของผู้ป่วยที่เกิดโรคเกาต์ประมาณร้อยละ 0.16 ของโรคปวดข้อกระดูกทั้งหมด (สมาคมรูมาติสซั่มแห่งประเทศไทย, 2555; Louthrenoo et al. 2015; Ragab et al. 2015) โดยพบในเพศชายมากกว่าเพศหญิงในอัตราส่วน 3:1 นอกจากนี้ยังพบความชุกการเกิดโรคเพิ่มขึ้นตามอายุ ในเพศชายอายุมากกว่า 65 ปี พบได้ร้อยละ 7 และเพศหญิงอายุมากกว่า 85 ปี และเพศหญิงวัยหมดประจำเดือนพบได้ร้อยละ 3 (Louthrenoo et al. 2015; Smith and March, 2015) แต่อย่างไรก็ตามผู้ที่มีภาวะกรดยูริกในเลือดสูง (hyperuricemia) อาจจะไม่มีอาการของโรคเกาต์ แต่ภาวะของกรดยูริกในเลือดสูงนั้นเป็นปัจจัยเสี่ยงสำคัญของการเกิดโรคเกาต์ ซึ่งระดับของกรดยูริกและพิวรีนที่เป็นสารตั้งต้นของการสร้างกรดยูริกในร่างกายของผู้ป่วยเกาต์ และผู้ที่มีภาวะกรดยูริกในเลือดสูงจะมีระดับสูงกว่าคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ (Choi et al. 2004; Zhoa et al. 2005)

2.2 กรดยูริก และสาเหตุการเกิดกรดยูริก

กรดยูริกเป็นผลผลิตสุดท้ายจากการสลายพิวรีนซึ่งเป็นสารสำคัญในนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) ที่ใช้สำหรับการสร้างสารพันธุกรรม ดังนั้นการสลายเซลล์ของสิ่งมีชีวิตทุกชนิดจะได้

เบสพิวรีน ซึ่งเบสพิวรีนอิสระจะเข้าสู่กระบวนการย่อยสลายพิวรีนได้ผลผลิตสุดท้ายเป็นกรดยูริก โดยนำไปกำจัดต่อที่ไต และขับออกทางปัสสาวะ ดังแสดงไว้ในภาพที่ 2.1 นอกจากนี้สาเหตุของการเกิดกรดยูริกมาจาก 2 ปัจจัย ได้แก่ ปัจจัยภายนอก (exogenous purine) เกิดจากสารพิวรีนหรือนิวคลิโอโปรตีน (nucleoprotein) ที่ได้รับจากอาหารซึ่งปริมาณพิวรีนที่เกิดจากการบริโภคอาหารนั้น จะเปลี่ยนแปลงไปตามปริมาณพิวรีนที่มีอยู่ในอาหาร ดังนั้นกรดยูริกจะเปลี่ยนแปลงไปตามการบริโภคอาหารที่มีโปรตีนสูง และปัจจัยภายใน (endogenous purine) เกิดจากสารพิวรีนที่ได้จากการสลายตัวของเซลล์ต่างๆ ในร่างกาย หรือเกิดความผิดปกติในวิถีเมแทบอลิซึมของพิวรีนทำให้มีการสร้างกรดยูริกมากขึ้น เช่น ความผิดปกติของเอนไซม์ที่สังเคราะห์ phosphoribosylpyrophosphate (PRPP synthetase) ทำให้ PRPP ถูกสร้างมากขึ้น และมีผลทำให้เกิดการสร้างพิวรีนมากขึ้นด้วย ดังนั้นการมีพิวรีนที่มากขึ้นจึงเกิดการสลายพิวรีนที่มากตามมาด้วย (อัญชนะ และคณะ, 2547; AACC, 2012)



ภาพที่ 2.1 ภาพรวมกระบวนการเมแทบอลิซึมพิวรีนและผลผลิตกรดยูริก

ที่มา: Kaneko et al. (2014)

นอกจากนี้จากข้อมูลการบริโภคอาหาร พบว่าโปรตีนจากเนื้อสัตว์เป็นแหล่งอาหารคุณภาพดี มีสารอาหารครบถ้วนจึงเป็นที่นิยมของผู้บริโภค โดยเฉพาะเนื้อไก่ถือว่าเป็นแหล่งของโปรตีนจากเนื้อสัตว์ที่มีราคาถูก แต่ขณะเดียวกันเนื้อไก่ก็มีปริมาณพิวรีนค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อสัตว์ชนิดอื่น เช่น เนื้อปลา เนื้อวัว เนื้อหมู และโดยเฉพาะส่วนเครื่องใน เช่น ตับ เป็นต้น ซึ่งพบว่ามีปริมาณการสะสมพิวรีนสูงทำให้เป็นข้อจำกัดสำหรับคนที่เป็นโรคเกาต์ หรือกลุ่มคนที่เสี่ยงต่อการเกิดโรคเกาต์ ดังนั้นหากลดพิวรีนในเนื้อไก่ได้ก็น่าจะเป็นการเพิ่มทางเลือกสำหรับผู้บริโภคกลุ่มดังกล่าวได้มากขึ้น ดังแสดงตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ปริมาณพิวรีน และกรดยูริกในเนื้อสัตว์ (mg/100 g)

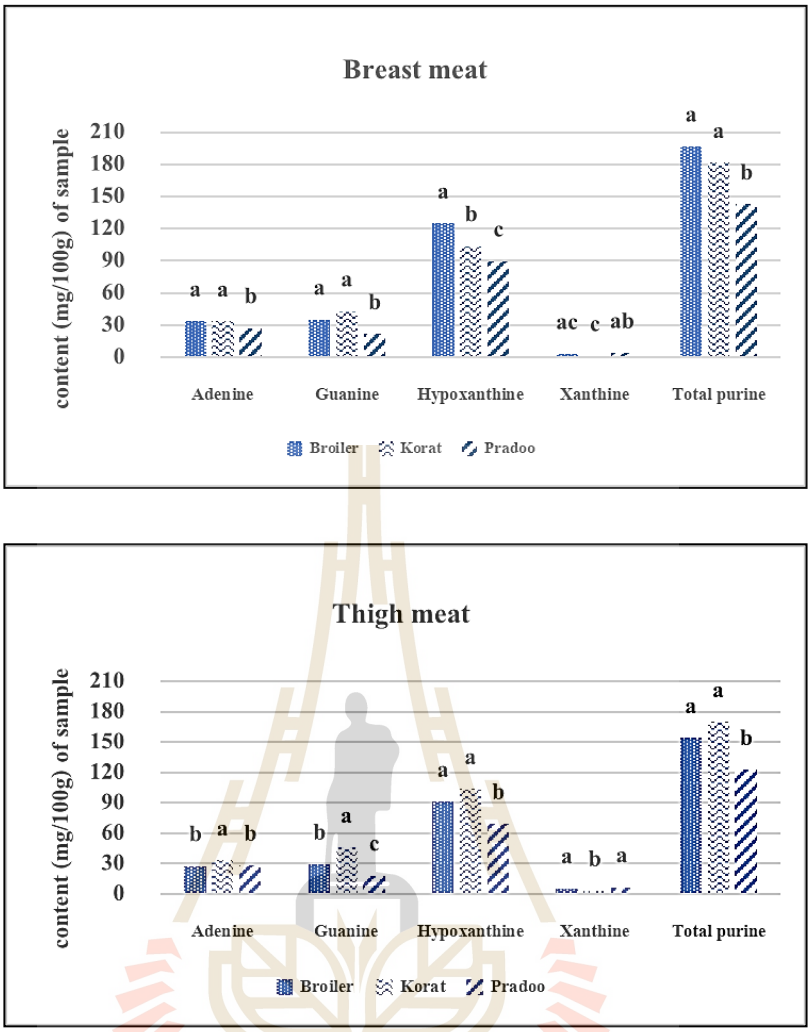
Meats	**Part**	**Adenine**	**Guanine**	**Hy**[1/]	**Xanthine**	**Total purine**[2/]	**Uric acid**[3/]	**Classified group**[4/]
Chicken	Gizzard	45.9	51.4	39.5	6.1	142.9	169.8	3
	Heart	31.3	36.1	52.6	5.4	125.4	150.0	3
	Leg	27.0	19.6	76.2	0.0	122.9	149.6	3
	Liver	121.6	151.1	-	39.5	312.2	363.1	5
	Skin	48.6	43.8	27.2	-	119.7	142.9	3
	White meat	27.0	16.6	110.2	0.0	153.9	188.3	3
	Wing	28.4	16.6	92.5	0.0	137.5	168.1	3
Pork	Liver	81.1	102.7	34.0	66.9	284.8	331.2	4
	Ribs	13.5	10.6	51.7	0.0	75.8	92.5	2
	Shoulder ribs	16.2	10.6	64.0	0.0	90.8	110.9	2
	Sirloin	17.6	12.1	61.2	0.0	90.9	110.9	2
	Buttocks	17.0	21.9	23.2	6.7	68.8	81.6	2
	Brisket	13.5	7.6	49.0	9.1	79.2	95.8	2
Beef	Liver	86.5	83.1	-	50.2	219.8	255.5	4
	Rib loin	13.5	7.6	39.5	13.7	74.2	89.1	2
	Shoulder ribs	14.9	9.1	36.7	16.7	77.4	92.5	2
Salmon	-	17.6	10.6	91.2	0.0	119.3	146.2	3
Tuna	-	17.6	10.6	129.3	0.0	157.4	193.3	3
Sablefish	-	27.4	11.9	83.9	0.2	123.3	151.1	3

หมายเหตุ: [1/] Hy: Hypoxanthine; [2/]The total purine calculated from the combined amounts of adenine, guanine, hypoxanthine, and xanthine. [3/]The calculated uric acid is the amount of uric acid produced in the purine metabolic pathway in the body, calculated as uric acid (mg/100 g) = (MW. uric acid (168.1 g/mol) × total purines (μmol/100 g)) /1,000. [4/] Classification according to purine content; 1:the very low group: less than 50 mg/100 g; 2: the low group: 50-100 mg/100 g; 3: the moderate group: 100-200 mg/100 g and 4: the high group: 200-300 mg/100 g.

ที่มา: ดัดแปลงจาก Kaneko et al. (2014) and http://purinelist.com

นอกจากนี้มีการรายงานว่า ไฮโปแซนทีนมีส่วนสำคัญในการเกิดกรดยูริกมากกว่าอนุพันธ์พิวรีนตัวอื่น ๆ ในผู้ป่วยโรคเกาต์ หรือผู้ป่วยที่มีภาวะกรดยูริกในเลือดสูง (Clifford et al.1976; Brulé et al. 1992) เนื่องจากกระบวนสังเคราะห์พิวรีน และกระบวนการย้อนกลับของไฮโปแซนทีนสามารถเปลี่ยนเป็นแซนทีนโดยเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส และได้ผลผลิตสุดท้ายเป็นกรดยูริก ดังนั้นผู้ป่วยโรคเกาต์หรือผู้ที่เสี่ยงต่อการเกิดโรคเกาต์ ก่อนการบริโภคเนื้อไก่นั้นเมื่อมีการคำนวณถึงปริมาณพิวรีนที่อาจจะก่อให้เกิดกรดยูริกในร่างกาย โดยสามารถคำนวณได้จากสมการดังนี้ กรดยูริก (มิลิกรัม/100 กรัม) เท่ากับปริมาณพิวรีนทั้งหมดที่ได้จากอาหาร (ไมโครโมล) คูณด้วยมวลโมเลกุลของกรดยูริก (168.1 กรัม/โมล) หารด้วย 1,000 ซึ่งการคำนวณจากสูตรนี้เป็นผลที่คาดว่าเมื่อได้รับอาหารเข้าสู่ร่างกาย แล้วมีกระบวนการการย่อยสลาย และดูดซึมอาหาร ผ่านกระบวนการสังเคราะห์พิวรีนในร่างกาย จนได้ผลผลิตสุดท้ายเป็นกรดยูริก ที่เป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคเกาต์มากที่สุด (Brulé et al. 1992; Kaneko et al. 2014)

นอกจากนี้การเปรียบเทียบปริมาณสารพิวรีนในเนื้ออกและเนื้อสะโพก พบว่าในเนื้อไก่มีสัดส่วนของปริมาณไฮโปแซนทีนที่สูง ดังแสดงในภาพที่ 2.2 จากการรายงานผลของ จิราวัฒน์ ยงสวัสดิกุล และคณะ (2557); Kiratikrankul and Yongsawatdigul (2016) ที่มีการเปรียบเทียบปริมาณพิวรีนในเนื้ออก และเนื้อสะโพกของไก่ที่แตกต่างกันทั้ง 3 สายพันธุ์ ประกอบด้วยไก่เนื้อ ไก่โคราช และไก่ประดู่หางดำ พบว่าเนื้ออกและเนื้อสะโพกมีปริมาณไฮโปแซนทีนที่สูงในไก่เนื้อ อีกทั้งพบว่าไก่พื้นเมืองประดู่หางดำ อายุ 16 สัปดาห์ น้ำหนักตัวเฉลี่ย 1.51 กิโลกรัม มีปริมาณพิวรีนทั้งหมดต่ำที่สุดประมาณ 142.6 mg/100 g ในขณะเดียวกันไก่โคราช อายุ 12 สัปดาห์ น้ำหนักตัวเฉลี่ย 1.53 กิโลกรัม และไก่เนื้อ อายุ 5 สัปดาห์ น้ำหนักตัวเฉลี่ย 1.55 กิโลกรัม มีปริมาณพิวรีนใกล้เคียงกันประมาณ 181.3 mg/100 g และ 196.6 mg/100 g ตามลำดับ ซึ่งพฤติกรรมของไก่ยังเกี่ยวข้องกับปริมาณการสะสมพิวรีน เช่นการต่อสู้ การบิน หรือการเคลื่อนไหวต่างๆ มีผลทำให้กล้ามเนื้อส่วนต่าง ๆ เคลื่อนไหวมาก จากการศึกษาของ (Moriwaki et al. 1999) พบว่ามีเอนไซม์อะดีโนซีนมอนอฟอสเฟตดีอะมิเนส (adenosine monophosphate deamenase) สูงกว่าเนื้อเยื่อส่วนอื่นๆ ซึ่งเอนไซม์ AMP deaminase เกี่ยวข้องกับการปรับสมดุลของของแหล่งพลังงานในกล้ามเนื้อโดยมีหลักการคือ การเปลี่ยนอะดีนีนในกล้ามเนื้อ ไปเป็นอิโนซีน และ IMP จากนั้น IMP มีการเปลี่ยนแปลงให้ได้เป็นอะดีนิวโลซักซิเนต (adenylosuccinate) (Coffee and Solano, 1977) ซึ่งเป็นผลทำให้พบว่าอะดีนีนในเนื้อสะโพกของไก่โคราช มีปริมาณต่ำกว่าไก่เนื้อ

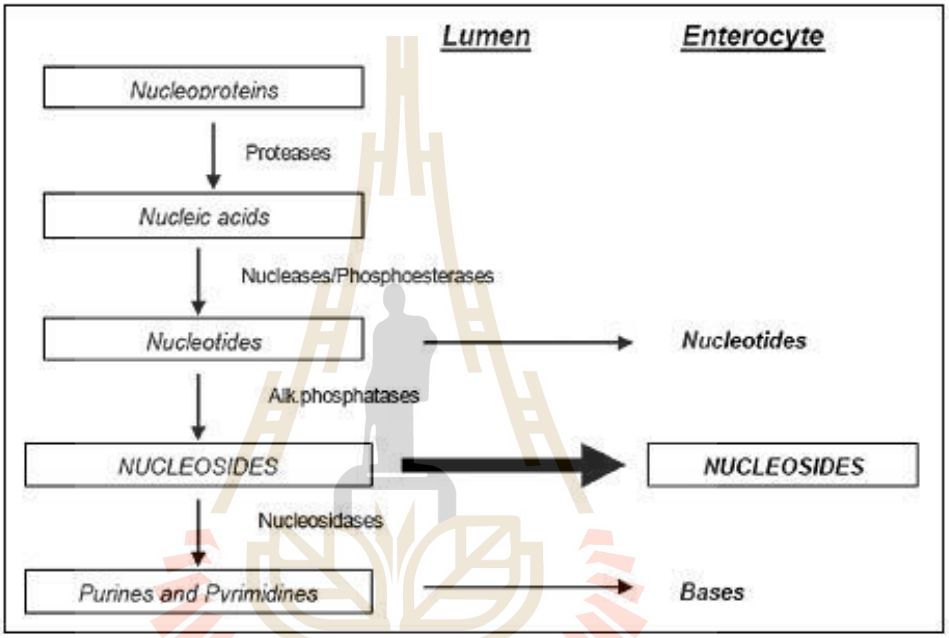


ภาพที่ 2.2 การเปรียบเทียบปริมาณพิวรีนในเนื้ออก และสะโพกของไก่ที่แตกต่างกัน 3 สายพันธุ์
ที่มา: Kiratikrankul and Yongsawatdigul (2016)

โครงสร้างทางเคมี การย่อย และการดูดซึมของกรดนิวคลีอิก

กรดนิวคลีอิกเป็นส่วนประกอบสำคัญในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต ซึ่งเป็นส่วนที่ทำให้เซลล์เกิดการจำลองตัวเอง (self-duplication) หรือนิวคลีโอไทด์เป็นมอนอเมอร์ (monomer) ของกรดนิวคลีอิกซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวส่งข้อมูลทางพันธุกรรมของทุกเซลล์ เนื้อเยื่อ และสิ่งมีชีวิตทุกชนิด กรดนิวคลีอิกมีสองชนิด คือ deoxyribonucleic acid (DNA) และ ribonucleic acid (RNA) ทั้งนี้กรดนิวคลีอิกเป็นสารพันธุกรรมไม่ใช่สารอาหาร ดังนั้นร่างกายจึงไม่ต้องการสารเหล่านี้เพราะสามารถสังเคราะห์ได้เองตามปริมาณที่ต้องการ แต่อย่างไรก็ตามอาหารทุกชนิดที่เป็นผลิตภัณฑ์จากสิ่งมีชีวิตจะมีกรดนิวคลีอิกเป็นองค์ประกอบเสมอด้วยเหตุนี้ร่างกายจึงมีการย่อย และการดูดซึมกรดนิวคลีอิกในทางเดินอาหารด้วยการย่อย และการดูดซึมของกรดนิวคลีอิก ดังแสดงไว้ในภาพที่ 2.3 และ 2.4 โดยกรดนิวคลีอิกจะถูก

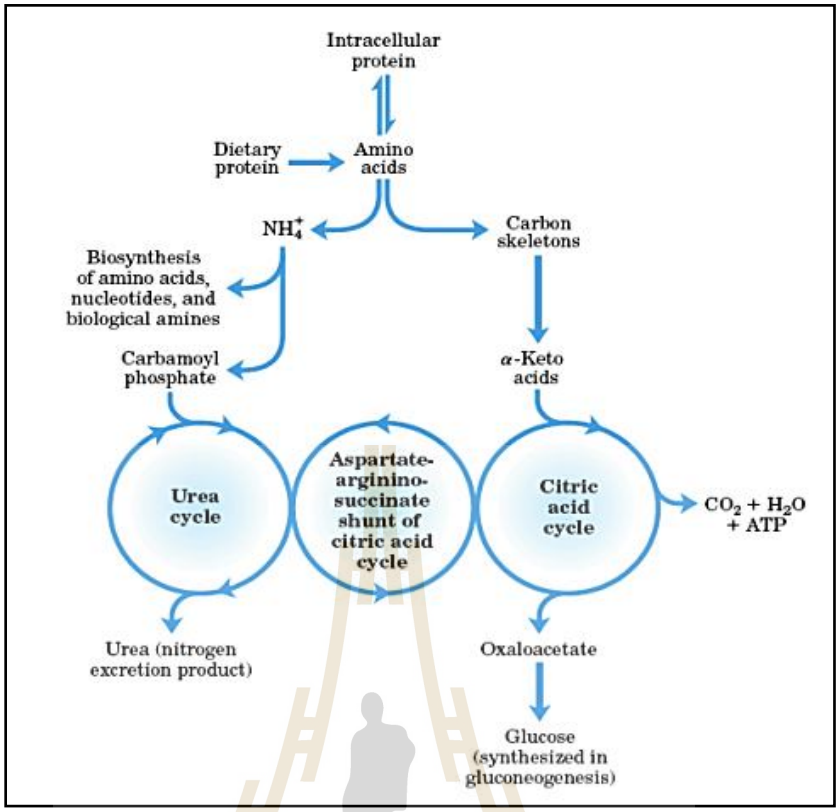
ทำให้เสียสภาพ และแยกออกจากโปรตีนด้วยสภาวะความเป็นกรดในกระเพาะอาหาร จากนั้นจะเคลื่อนมาสู่ลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenal) ซึ่งจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ในกลุ่ม nuclease ที่หลั่งจากตับอ่อน ได้แก่ เอนไซม์ deoxyribonuclease, ribonuclease และ polynucleotidase จะได้นิวคลีโอไซด์มอโนฟอสเฟต (nucleoside monophosphate) จากนั้นเอนไซม์ในกลุ่มของ nucleotidase จากเยื่อบุผนังลำไส้จะตัดหมู่ฟอสเฟตออกได้เป็นนิวคลีโอไซด์ และ นิวคลีโอไซด์จะถูกย่อยออกได้เป็นเบสไนโตรเจน น้ำตาลไรโบสหรือดีออกซิไรโบส ซึ่งสารเหล่านี้จะสามารถดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ และนำกลับมาใช้ใหม่ได้



ภาพที่ 2.3 การย่อย และการดูดซึมอาหารของกรดนิวคลีอิก

ที่มา: Hess (2012)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 2.4 กระบวนการสลายของกรดอะมิโนในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม
ที่มา: เปี่ยมสุข และคณะ (2559)

จากกลไกการสังเคราะห์และการย่อยสลายพิวรีนทำให้พบข้อสังเกตได้ว่า การที่มีสารตั้งต้นในการสร้างพิวรีนจำนวนมากจะเกิดพิวรีนในปริมาณที่มากตามไปด้วย อีกทั้งมีการสร้างพิวรีนที่มากขึ้นก็จะเกิดการสลายพิวรีนได้มากเช่นกัน ดังนั้นแนวทางที่เป็นไปได้สำหรับการลดพิวรีนในไก่เนื้ออาจจะต้องทำการลดสารตั้งต้นในการสร้างพิวรีน อย่างเช่นการปรับสมดุลกรดอะมิโนในสูตรอาหาร โดยที่โปรตีน (protein) เป็นสารอาหารที่ประกอบด้วยธาตุหลักคือ คาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน และไนโตรเจน โปรตีนบางชนิดอาจมีธาตุกำมะถัน และฟอสฟอรัสประกอบอยู่ด้วย โดยองค์ประกอบพื้นฐานของสารอาหารประเภทโปรตีนคือกรดอะมิโน (amino acid) โปรตีนแต่ละชนิดจะมีองค์ประกอบของกรดอะมิโน ทั้งชนิดและปริมาณที่แตกต่างกันออกไป ซึ่งกรดอะมิโนในอาหารมีอยู่ประมาณ 20 ชนิด สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

1. กรดอะมิโนจำเป็น (essential amino acids: EAA) คือ กรดอะมิโนที่ร่างกายไม่สามารถสร้างได้เองในปริมาณที่เพียงพอกับความต้องการของร่างกาย จึงจำเป็นต้องได้รับจากอาหาร

2. กรดอะมิโนไม่จำเป็น (non-Essential amino acids: NEAA) คือ กรดอะมิโนที่ร่างกายสามารถสร้างได้เองในปริมาณที่เพียงพอกับความต้องการ จึงไม่จำเป็นต้องได้รับจากอาหาร

ดังแสดงในตารางที่ 2.2 โดยโปรตีนเป็นส่วนประกอบสำคัญของเส้นขน เล็บ กล้ามเนื้อ และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน โปรตีนต่างชนิดหรือที่มาของอาหารที่เป็นแหล่งของโปรตีนต่างชนิด กันจะมีความแตกต่างกันในเรื่องของการย่อยได้หรือการนำไปใช้ประโยชน์ได้ของสัตว์ โปรตีนคุณภาพดีต้องเป็นโปรตีนที่มีองค์ประกอบของกรดอะมิโนโดยเฉพาะกรดอะมิโนจำเป็นครบถ้วน และสมดุลกรดอะมิโนตามความต้องการของสัตว์

โดยปกติร่างกายของสัตว์ปีกและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จะมีกระบวนการกำจัดไนโตรเจนส่วนเกินออกมาในรูปของกรดยูริก เนื่องจากกรดอะมิโนที่ร่างกายไม่ต้องการนั้นจะถูกกำจัดกลุ่มอะมิโนออกโดยอาศัยปฏิกิริยาดีอะมิเนชั่น (deamination) และปลดปล่อยแอมโมเนียออกมา จากนั้นแอมโมเนียจะถูกเปลี่ยนเป็นยูเรียที่ตับและส่งต่อมายังกระแสเลือดเพื่อขับออกนอกร่างกาย สำหรับในร่างกายของสัตว์ปีกและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมต้องทำการเปลี่ยนยูเรียให้อยู่ในรูปของกรดยูริกก่อนกำจัดออกนอกร่างกาย เพื่อลดความเป็นพิษต่อร่างกาย ดังแสดงภาพที่ 2.5 นอกจากนี้แอมโมเนียสามารถนำไปสังเคราะห์เป็นกลูตาเมต โดยเอนไซม์กลูตาเมต ดีไฮโดรจีเนส (glutamate dehydrogenase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาได้

ตารางที่ 2.2 การจำแนกกรดอะมิโนที่จำเป็น และไม่จำเป็นของสัตว์ปีก

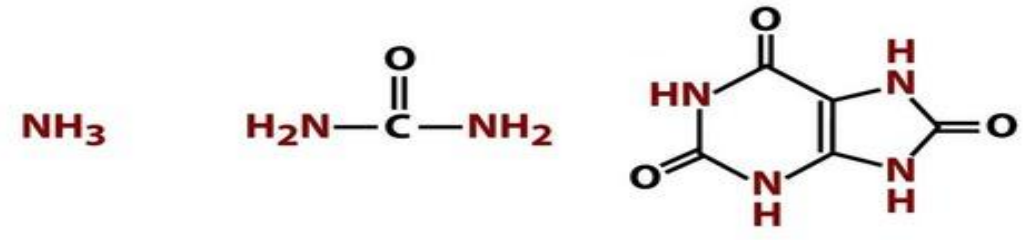
Essential amino acids: EAA (indispensable amino acids)		**Non-Essential amino acids: NEAA (dispensable amino acids)**	
Arginine	Methionine	Alanine	Cystine[1/]
Histidine	Phenylalanine	Aspartate	Tyrosine[1/]
Isoleucine	Threonine	Asparagine	Glycine[2/]
Leucine	Tryptophan	Glutamate	Serine[2/]
Lysine	Valine	Glutamine	Proline[3/]
		Cysteine	Hydroxyproline
		Taurine	Hydroxylysine[1/]

หมายเหตุ: [1/]Hydroxylysine, Cystine and Tyrosine are synthesized from lysine, methionine and phenyl-alanine, respectively.

[2/]Amino acids required in addition to the essential amino acids by a chick for optimal or more rapid growth because of this synthesis may not be sufficient.

[3/]When diets composed of crystalline amino acids are used, proline may be necessary to achieve maximum growth.

ที่มา: ดัดแปลงจาก Wu (2009)



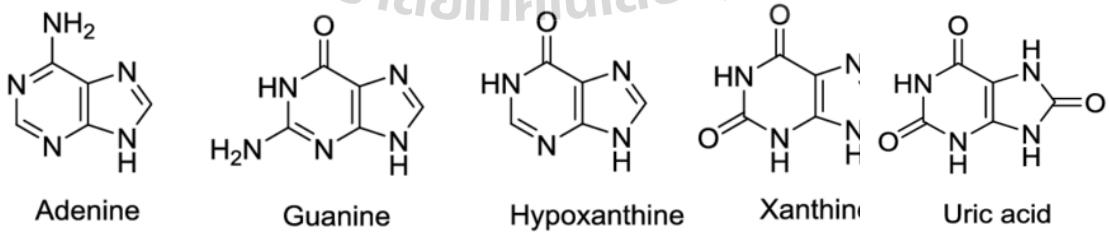
Ammonia **Urea** **Uric acid**

ภาพที่ 2.5 การกำจัดของเสียที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ

ที่มา: เปี่ยมสุข และคณะ (2559)

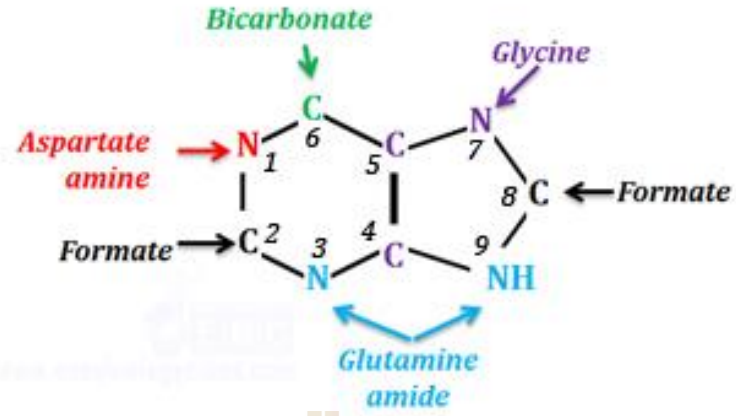
2.3 ที่มาและกระบวนการสังเคราะห์พิวรีน

พิวรีนคือ สารประกอบอินทรีย์ที่มีโครงสร้างโมเลกุลเป็นเฮเทอโรไซคลิกเบส (heterocyclic base) มีไนโตรเจนและมีวงแหวน 2 วงติดกัน พิวรีนเป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของนิวคลีโอไซด์ นิวคลีโอไทด์ และกรดนิวคลีอิก มีการจับคู่กับไพริมิดีน (pyrimidine) เชื่อมต่อกับวงแหวนอิมิดาโซล (imidazole) ดังแสดงภาพที่ 2.6 ในโมเลกุลของกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิก (deoxyribonucleic acid; DNA) และกรดไรโบนิวคลีอิก (ribonucleic acid; RNA) เช่น อะดีนีน และ กวานีน นอกจากนี้ยังมีไฮโปแซนทีนและแซนทีน เป็นสารประกอบพิวรีนที่สำคัญเช่นกัน ซึ่งวงแหวนพิวรีนสังเคราะห์มาจากกรดอะมิโน อนุพันธ์ของเตทตระไฮโดรโฟเลท และ CO_2 ไกลซีนเป็นตัวให้ C-4, C-5 และ N-7, N-1 มาจากแอสพาเตท ไนโตรเจน 2 อะตอม คือ N-3 และ N-9 มาจากกลูตามีน อนุพันธ์เตทตระไฮโดรโฟเลท เป็นตัวให้ C-2 และ C-8 และ CO_2 เป็นตัวให้ C-6 ดังแสดงภาพที่ 2.7



ภาพที่ 2.6 โครงสร้างของพิวรีน และอนุพันธ์ของพิวรีนชนิดต่างๆ

ที่มา: Huang et al. (2014)



ภาพที่ 2.7 แหล่งกำเนิดอะตอมไนโตรเจน (N) และคาร์บอน (C) ของวงแหวนเบสพิวรีน
ที่มา: http://www.easybiologyclass.com

2.4 กระบวนการสังเคราะห์และการสลายของพิวรีน

กระบวนการสังเคราะห์พิวรีน (biosynthesis pathway) ประกอบด้วย 2 กระบวนการหลัก ได้แก่ กระบวนการการสร้างใหม่ (de novo pathway) และกระบวนการนำมาใช้ซ้ำ (salvage pathway) และกระบวนการสลาย (degradation) ดังแสดงไว้ในภาพที่ 2.8

2.4.1 การสังเคราะห์พิวรีน (de novo pathway)

โดยกระบวนการนี้ใช้สารตั้งต้นมาจากหลาย ๆ แหล่งได้แก่ หมู่เอมีน (amine group) ของกรดอะมิโนแอสปาติค (aspartic acid) หมู่เอไมด์ (amide group) ของกลูตามีน (glutamine) กรดอะมิโนไกลซีน (glycine) และคาร์บอนไดออกไซด์ ดังแสดงไว้ใน ภาพที่ 2.7 ซึ่งกระบวนการสังเคราะห์นี้เกิดขึ้นในไซโทพลาสซึม ซึ่งขั้นตอนการสังเคราะห์เริ่มจากไรโบส-5-ฟอสเฟต (ribose-5-phosphate) โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ฟอสโฟไรโบซิล ไพโรฟอสเฟตซินทีเทส (phosphoribosyl pyrophosphate synthetase; PRPP synthetase) ได้ผลผลิตสารตัวกลาง คือ PRPP ซึ่งจะถูกเปลี่ยนแปลงต่อโดยมีเอนไซม์ phosphoribosyl pyro-phosphate glutamyl amidotransferase (PRPP glutamyl amidotransferase) ทำหน้าที่ขั้นตอนกำหนดอัตราเร็ว (rate limiting step enzyme) หลักของปฏิกิริยาและถูกเปลี่ยนแปลง อย่างต่อเนื่องอีกหลายขั้นตอน (11 ขั้นตอน) จนกระทั่งได้ผลิตผลเป็นพิวรีนตัวแรก คืออิโนซีนโมโนฟอสเฟต (inosine monophosphate; IMP) ซึ่งจะถูกเปลี่ยนแปลงต่อจนกระทั่งได้พิวรีนอีก 2 ตัว คืออะดีโนซีนโมโนฟอสเฟต (adenosine monophosphate; AMP) และกวาโนซีนโมโฟอสเฟต (guanosine monophosphate; GMP) ในที่สุด

สำหรับการควบคุมการสังเคราะห์ (regulation of biosynthesis) การควบคุมวิถีการสังเคราะห์พิวรีน เป็นกระบวนการควบคุมแบบย้อนกลับ เรียกว่า “feedback inhibition” โดยผลิตผล

ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาจะทำหน้าที่ไปควบคุมการทำงานของเอนไซม์ควบคุมหลักของปฏิกิริยา (rate-limiting enzymes) เพื่อควบคุมระดับของพิวรีนให้อยู่ในปริมาณที่เหมาะสม ซึ่งเกิดขึ้นที่หลายจุดในวิถีการสังเคราะห์ เริ่มตั้งแต่การสร้าง PRPP ซึ่งเป็นปฏิกิริยาแรก ที่จุดนี้ ADP และ GDP จะทำหน้าที่ไปยับยั้งการทำงานของ PRPP synthetase ต่อมาคือ PRPP glutamyl amidotransferase สามารถถูกกระตุ้นได้โดย PRPP แต่สามารถถูกยับยั้งได้โดยผลิตผลของปฏิกิริยา นอกจากนั้นในจุดแยกของปฏิกิริยาการสังเคราะห์จาก IMP ไปเป็น AMP หรือ GMP

2.4.2 การสังเคราะห์พิวรีน (salvage pathway)

สำหรับกระบวนการนำกลับมาใช้ใหม่ โดยการนำเอาเบสอิสระที่มีอยู่มาเปลี่ยนให้เป็นนิวคลีโอไทด์ ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับเอนไซม์ 2 ชนิด คืออะดีนีน ฟอสโฟไรโบซิลทรานเฟอเรส (adenine phosphoribosyl transferase; APRT) ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์ AMP และไฮโปแซนทีน กวานีน ฟอสโฟ-ไรโบซิลทรานเฟอเรส (hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase; HGPRT) ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์ IMP และ GMP โดยทั้ง APRT และ HGPRT ทำปฏิกิริยานำเอาเบสอิสระของอะดีนีน กวานีน และไฮโปแซนทีน ที่ได้จากอาหารหรือจากการย่อยสลายนิวคลีโอไทด์มาเข้าสู่กระบวนการสร้าง IMP, AMP และ GMP จากนั้นจะเกิดการสังเคราะห์เหมือนกระบวนการของการสร้างใหม่จะถูกเร่งปฏิกิริยาด้วย PNP เพื่อปลดปล่อยเบสพิวรีน (สมปอง, 2549; Pospisilova et al., 2013)

2.4.3 กระบวนการการสลายพิวรีน (degradation)

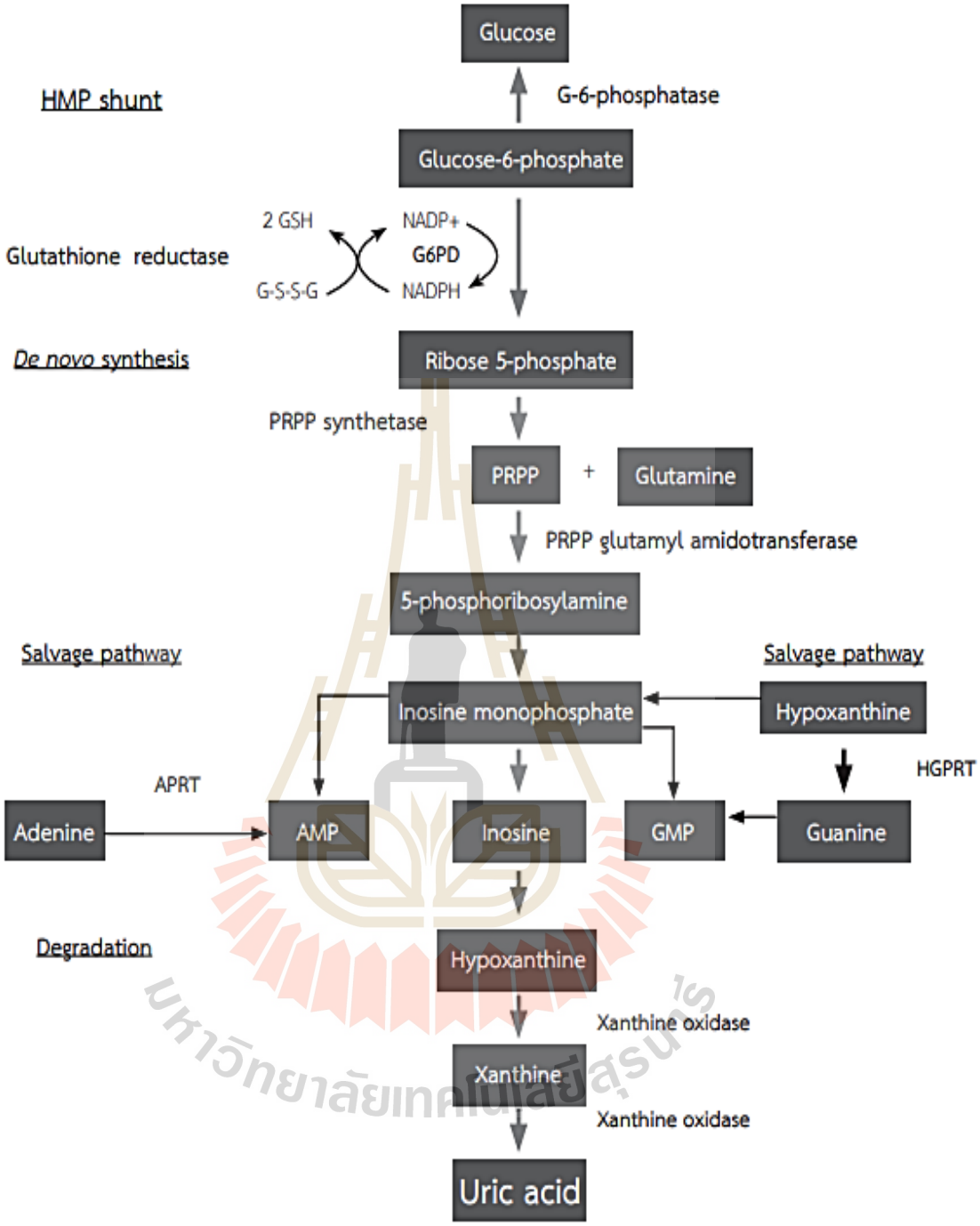
สำหรับกระบวนการสลายพิวรีนเริ่มจากการกำจัดหมู่อะมิโน ซึ่งเบสอะดีนีนจะถูกดึงเอาหมู่อะมิโนออก จาก AMP โดยอาศัยเอนไซม์ AMP deaminase กลายเป็น IMP หรืออะดีโนซีน (adenosine) หลังจากนั้นอะดีโนซีน จะถูกกำจัดโดยอะดีโนซีนดีอะมิเนส (adenosine deaminase; ADA) กลายเป็นอิโนซีน ซึ่งจะถูกสลายต่อไปเป็นไฮโปแซนทีน สำหรับเบสกวานีนจะถูกดึงเอาหมู่อะมิโนออกเช่นเดียวกัน โดยใช้เอนไซม์กวาโนซีน (guanine deaminase) ได้เป็นแซนทีน สำหรับไฮโปแซนทีนที่เกิดขึ้นจะถูกออกซิไดส์ (xanthine oxidase) ได้เป็นแซนทีน จากนั้นแซนทีนจะถูกออกซิไดส์ต่อได้เป็นกรดยูริก ซึ่งการเร่งปฏิกิริยาออกซเดชันของทั้งสองปฏิกิริยาคือ เอนไซม์แซนทีนออกซิเดส (xanthine oxidase) นอกจากนี้เอนไซม์กวาโนซีนจะมีอยู่ในอวัยวะต่างๆ เช่น ลำไส้ ตับ ไต ม้าม ดังนั้นการสลายเบสกวานีนจึงเริ่มจากเบสอิสระได้ Ellington (2005) พบว่าระดับของอะดีนีน และไฮโปแซนทีนจะมีผลกระทบต่อระดับกรดยูริกมากกว่ากวานีน และแซนทีน

2.5 ความเป็นไปได้ของการลดพิวรีน และกรดยูริกในเนื้อไก่

โอกาสความเป็นไปได้ในการประกอบสูตรอาหาร เพื่อลดปริมาณพิวรีนในเนื้อไก่โดราช ซึ่งจากการรวบรวมเอกสารพบว่า สาเหตุของการเกิดพิวรีนมาจาก 2 ปัจจัยคือ จากการที่ร่างกายสลายและสังเคราะห์ขึ้นเองประมาณ 80% โดยการสลายกรดนิวคลีอิกภายในเซลล์ซึ่งอาจเป็นผลมาจาก

เซลล์ตาย และจะมีการนำเอาสารต่างๆ กลับมาใช้ใหม่เสมอ และสำหรับปัจจัยที่สองคือ จากการย่อยกรดนิวคลีอิกที่ได้รับจากอาหารประมาณ 20% ดังนั้นทางเลือกหนึ่งที่มีความเป็นไปได้สำหรับการลดพิวรีน และกรดยูริกในเนื้อไก่คือ การลดปริมาณพิวรีนในอาหารของไก่ ซึ่งจากการรวบรวมเอกสารพบว่าแนวทางเบื้องต้นในการลดพิวรีนนี้มีความเป็นไปได้ 2 วิธีคือ โดยวิธีการศึกษาผลของการใช้วัตถุดิบอาหารสัตว์นำมาเป็นส่วนประกอบสูตรอาหารสัตว์ อาทิเช่น ข้าวโพด มันสำปะหลัง ข้าวสาลี หรือกลุ่มวัตถุดิบอาหารประเภทแป้งเป็นต้น ซึ่งเป็นแหล่งให้พลังงานอีกทั้งมีปริมาณพิวรีนต่ำ และการลดระดับโปรตีนร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ เพื่อปรับสมดุลกรดอะมิโนให้ครบถ้วนตามความต้องการของสัตว์ (Swennen et al, 2005; Namroud et al, 2008) อีกทั้งเป็นการลดเบสพิวรีนรีนอิสระที่เกิดจากการย่อยสลายของกรดนิวคลีอิก น่าจะส่งผลถึงการลดสารตั้งต้นพิวรีนในการสร้างผลผลิตกรดยูริกในเนื้อไก่ได้ (Choi et al, 2007; Donsbough et al, 2010; Kaneko et al, 2014) จากการรวบรวมเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับผลการเสริมกรดอะมิโนแต่ละชนิดในอาหารไก่เนื้อต่อกรดยูริกของไก่เนื้อ ดังแสดงในตารางที่ 2.5

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 2.8 กระบวนการเมแทบอลิซึม และแคทาบอลิซึมของพิวรีนนิวคลีโอไทด์

ที่มา: Chantra (2017)

2.5.1 ศึกษาปริมาณพิวรีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ (Purine content in feedstuffs)

จากการรวบรวมข้อมูลปริมาณพิวรีนทั้งหมด โดยคำนวณจากผลรวมของเบสอะดีนีน กวานีน ไฮโปแซนทีน และแซนทีน พบว่าวัตถุดิบอาหารสัตว์ในกลุ่มแหล่งพลังงาน เช่น ข้าวโพด มันสำปะหลัง ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลีหรือแป้งจะมีปริมาณพิวรีนน้อยกว่า 50 mg/100 g และวัตถุดิบอาหารสัตว์ในกลุ่มโปรตีน เช่น ถั่วลิสง ถั่วอะซูกิ และถั่วเหลือง มีปริมาณพิวรีน 172.5 mg/100 g ค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบในกลุ่มพลังงาน ดังแสดงในตารางที่ 2.3 ดังนั้นการคัดเลือกวัตถุดิบอาหารสัตว์เพื่อประกอบสูตรอาหารพิวรีนต่ำน่าจะมีโอกาสเป็นไปได้ในการลดการสะสมพิวรีนในเนื้อไก่

ตารางที่ 2.3 ปริมาณพิวรีน และอนุพันธ์พิวรีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ (mg/100 g)

Feedstuffs	Adenine	Guanine	Hypoxanthine	Xanthine	Total purine[1/]	Classified group[2/]
Corn	4.7	6.9	0.1	0.1	11.7	1
Cassava	-	-	-	-	37.0	1
Potato	2.1	4.2	0.2	0.0	6.5	1
Wheat grain	-	-	-	-	17.0	1
Wheat flour	-	-	-	-	8.0	1
Rice bran	36.1	57.2	6.0	0.9	100.2	3
Barley	21.6	22.7	0.0	0.0	44.3	1
Oat meal	-	-	-	-	42.0	1
Peanut	18.9	28.6	0.0	1.6	49.1	1
Soybean	74.3	98.2	0.0	0.0	172.5	3
Azuki bean	33.8	43.8	0.0	0.0	77.6	2
Wheat flour	-	-	-	-	11.5	1
Banana	1.2	1.7	0.1	0.0	3.0	1
Tofu	13.1	8.8	0.0	0.0	21.9	1
Green soybean	20.8	27.2	0.0	0.0	47.9	1

หมายเหตุ: [1/]The total purine calculated from the combined amounts of adenine, guanine, hypoxanthine, and xanthine. [2/] Classification according to purine content; 1: the very low group: less than 50 mg/100 g; 2: the low group: 50-100 mg/100 g and 3: the moderate group: 100-200 mg/100 g.

ที่มา: ดัดแปลงจาก Kaneko et al. (2014) and http://purinelist.com

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2.5.2 การลดระดับโปรตีนเสริมร่วมกับกรดอะมิโนสังเคราะห์ ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ

ระดับโปรตีนในอาหารสัตว์ก็เป็นอีกปัจจัยที่มีผลต่อการสะสมพิวรีนในเนื้อไก่ ซึ่งความต้องการสัตว์ปีกที่แท้จริงเป็นความต้องการกรดอะมิโน ดังนั้นหากลดระดับโปรตีนในสูตรอาหารร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ ก็น่าจะเป็นแนวทางหนึ่งในการลดการสะสมพิวรีน โดยจากการรวบรวมเอกสารงานวิจัย การศึกษาการลดระดับโปรตีนร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ในอาหารไก่เนื้อ ดังแสดงในตารางที่ 2.4 พบว่าสามารถลดระดับโปรตีนในอาหารลงได้จาก 20% CP ถึง 15% CP เมื่อเสริมร่วมกรดอะมิโนสังเคราะห์ของไก่เนื้อ จากการศึกษา Namroud et al. (2008) ในไก่เนื้อช่วงอายุ 10 ถึง 28 วัน พบว่าการลดระดับโปรตีนที่ 23 21 19 และ 19% ร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนในกลุ่มไกลซีน และกลูตามีน ส่งผลให้สามารถเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโต การกินได้ และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารดีขึ้น นอกจากนี้การลดโปรตีนที่ระดับ 17% ในสูตรอาหาร พบว่ามีผลให้น้ำหนักตัว ปริมาณการกินได้ลดลง และ FCR เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานผลของ Kobayashi et al. (2013) ที่รายงานว่าการลดระดับโปรตีนในอาหารลดลงถึง 15% ร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ ส่งผลให้น้ำหนักตัว และปริมาณการกินได้เพิ่มขึ้น เทียบเท่ากลุ่มควบคุม แต่อย่างไรก็ตามพบว่าการลดระดับโปรตีน 15% ร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ ส่งผลให้ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารลดลง จากผลการศึกษาของ Ardekani et al. (2012) พบว่าการลดโปรตีนในอาหารร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ในอาหารไก่เนื้อที่อายุ 21 ถึง 31วัน พบว่าการลดระดับโปรตีนถึง 16% มีผลทำให้น้ำหนักตัว และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารที่ดีที่สุด และจากผลการศึกษาของ Yamazaki et al. (2006) พบว่าการลดระดับโปรตีน 21% ร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ เช่น BCAA ทรีโอนีน เมทไธโอนีน AAA BAA ไกลซีน และทริปโตเฟน ในอาหารที่ระดับโปรตีน 19% ไม่ส่งผลกระทบต่อน้ำหนักตัว ปริมาณการกินได้ และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร ($P<0.05$) ดังนั้นจากการรวบรวมเอกสารสรุปได้ว่า สามารถลดระดับโปรตีนร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ในสูตรอาหารได้ถึง 2 ถึง 5% โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต ปริมาณการกินได้ และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร แต่อย่างไรก็ตามหากลดระดับโปรตีนมากถึง 6% พบว่ามีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพใช้อาหาร

ตารางที่ 2.4 การศึกษาระดับของโปรตีนในอาหารร่วมกับกรดอะมิโนสังเคราะห์ ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ

Treatment	Level of CP diet (%)	Age (d)	BWG (g/b/d)	FI (g/b/d)	FCR	References
Control	20		586[b]	1016[c]	1.73[a]	
100% EAA	18	21-31	938[a]	1427[b]	1.52[b]	Ardekani et
100% EAA	16		998[a]	1550[a]	1.55[b]	al. (2012)
Control	20		794[a]	1150[b]	1.45[a]	
Low protein	15	21-31	513[b]	1091[b]	2.13[b]	Kobayashi
Low protein + EAA	15		663[a]	1331[a]	2.00[b]	et al. (2013)
23 % CP	23		1,041[a]	1,376[a]	1.67[c]	
21 % CP	21		1,039[a]	1,368[a]	1.67[c]	
19 % CP	19		1,035[a]	1,374[a]	1.68[c]	
17 % CP	17	10-28	859[c]	1,139[d]	1.77[a]	Namroud et
19 % CP + Gly, Glu	19		1,040[a]	1,370[a]	1.67[c]	al. (2008)
17 % CP + Gly, Glu	17		962[b]	1,330[b]	1.78[a]	
19 % CP + EAA	19		964[b]	1,309[c]	1.74[b]	
17 % CP + EAA	17		811[d]	1,072[e]	1.78[a]	
Control	21		575[ab]	854[ab]	1.49[ab]	
Low protein	19		532[b]	802[b]	1.50[b]	
BCAA	19		611[ab]	869[ab]	1.42[a]	
Threonine	19		569[ab]	835[ab]	1.47[ab]	Yamazaki et
Methionone	19	7-21	574[ab]	837[ab]	1.46[ab]	al. (2006)
AAA	19		585[ab]	856[ab]	1.45[ab]	
BAA	19		615[a]	886[ab]	1.44[ab]	
Glycine	19		599[ab]	870[ab]	1.45[ab]	
Tryptophan	19		617[a]	898[a]	1.45[ab]	

หมายเหตุ:[a,b,c,d] Means with different superscripts in a row are significantly different ($P<0.05$). BCAA= leucine +isoleucine + valine hydroxyl amino acid; Thr = threonine; sulfur-containing amino acid; Met = methionine), aromatic amino acid AAA= phenylalanine + Tyrosine, basic amino acid. BAA = lysine+ arginine, glycine (Gly), tryptophan (Trp), and supplied each synthetic amino acids.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2.5.3 ผลของระดับโปรตีนร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ต่อระดับกรดยูริกของไก่เนื้อ

จากการรวบรวมเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับ ผลของระดับโปรตีนในอาหารร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ต่อระดับกรดยูริกของไก่เนื้อ พบว่าการลดระดับโปรตีนในสูตรอาหารร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ สามารถลดกรดยูริกในเลือดได้ ดังแสดงตารางที่ 2.5 ซึ่งกรดยูริกในเลือด ยูเรียไนโตรเจน และกรดยูริกในมูลของไก่นั้น เป็นดัชนีที่บ่งชี้ถึงสมดุลกรดอะมิโนในอาหารที่กิน เนื่องจากความต้องการโปรตีนของสัตว์ปีกที่แท้จริงเป็นความต้องการกรดอะมิโน ถ้าได้รับอาหารโปรตีนสูงเกินหรือกรดอะมิโนไม่สมดุลตามความต้องการร่างกายจะขับออกในรูปกรดยูริกมากขึ้น ส่งผลให้ปริมาณกรดยูริกในเลือดเพิ่มขึ้น (Kumta and Harper. 1961) จากการรายงานของ Namroud et al. (2008) พบว่าการลดระดับโปรตีน 17% และ การลดระดับโปรตีนระดับ 17% ร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ ส่งผลให้กรดยูริกทั้งในพลาสมาและในมูลลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ดังนั้นจากการรวบรวมเอสารพบว่าการลดระดับโปรตีนร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ในอาหารสามารถลดกรดยูริกลงได้

ตารางที่ 2.5 ผลของสูตรอาหารโปรตีนต่ำร่วมกับกรดอะมิโนสังเคราะห์ต่อระดับกรดยูริกของไก่เนื้อ

Treatments	plasma uric acid (mg/dL)	uric acid excreta (mg/g)	Reference
23 % CP	11.8[a]	113.5[a]	
21 % CP	11.9[a]	108.9[b]	
19 % CP	11.5[ab]	105.2[c]	
17 % CP	10.8[c]	101.1[d]	Namroud et al.
19 % CP + Gly[1/], Glu[2/]	11.9[a]	107.9[b]	(2008)
17 % CP + Gly, Glu	11.2[b]	104.9[c]	
19 % CP + EAA[3/]	11.6[ab]	105.9[c]	
17 % CP + EAA	10.7[c]	102.0[d]	

หมายเหตุ : [a,b,c,d] Means with different superscripts in a row are significantly different ($P<0.05$).

[1/]Glycine (Gly); [2/] Glutamic (Glu) and [3/] EAA; supplied each synthetic amino acids.

2.5.4 กรดอิโนซินในอาหารต่อการสะสมของอิโนซีนโมโฟอสเฟตในเนื้อไก่

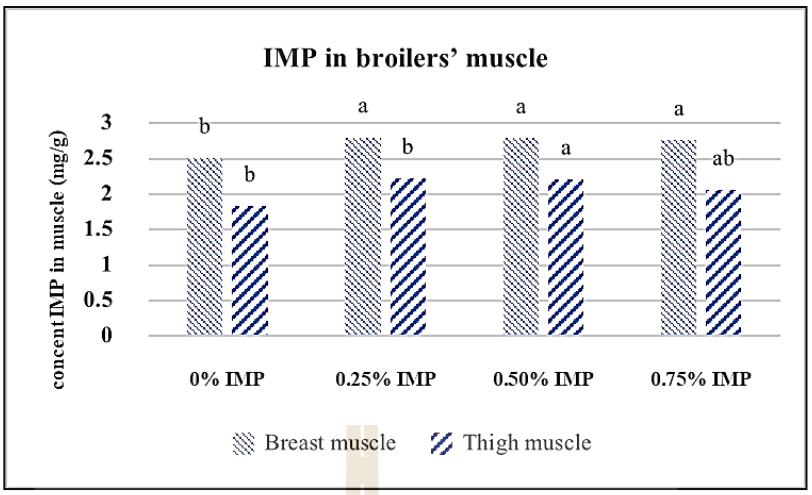
การวิเคราะห์ดัชนีบ่งชี้ความอร่อย (umami) คือ กัวโนซีนโมโฟอสเฟต (guanosine monophosphate, GMP) อิโนซีนโมโนฟอสเฟต (inosine monophosphate, IMP) และกรดกลูตามิกอิสระ โดยสามารถใช้เป็นดัชนีการแตกตัวของนิวคลีโอไทด์ ซึ่งมีความสัมพันธ์กับคุณภาพความสดด้วยการเสื่อมสลายของสารประกอบนิวคลีโอไทด์เกิดได้ทั้งจากจุลินทรีย์ และเอนไซม์ในกล้ามเนื้อ จากการศึกษาพบว่า สารประกอบ IMP เป็นนิวคลีโอไทด์หลักตามด้วยอิโนซีน และไฮโปแซนทีน ซึ่งสารพิวรีนหลักในเนื้อไก่คือ ไฮโปแซนทีน โดย Wagner et al. (1963) รายงานว่า IMP เป็นสารประกอบ aromatic heterocyclic ที่เกิดปฏิกิริยาระหว่าง 6-hydroxyl group ของ purine ring และ 5′-phosphate group ของน้ำตาล ribose ที่มีความสำคัญในการสร้างรสชาติที่ดี โดยพิวรีน นิวคลีโอไทด์จะถูกย่อยได้เป็นน้ำตาลเพนโทส กรดฟอสฟอริก และพิวรีน จากนั้นจะผ่านไปยังลำไส้เล็ก ตับ ไต และกล้ามเนื้อ ซึ่งสารบางส่วนจะเปลี่ยนเป็นกลุ่มสารตั้งต้น (building block) ในการสังเคราะห์ inosinic acid แบบ De Novo synthesis (Zhang et al. 2008) ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่จะเพิ่มระดับของ IMP และส่งผลกระทบต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มของสารตั้งต้น (Wang et al. 2014) ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จำเป็นต้องหาจุดสมดุลเกี่ยวกับการลดระดับพิวรีนในอาหารไก่ โดยที่ไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโต และความอร่อยและคุณภาพของเนื้อไก่

จากที่กล่าวไว้ข้างต้นพบว่า ไก่เนื้อมีปริมาณสารอนุพันธ์ของพิวรีน คือ ไฮโปแซนทีนสูงที่สุด อีกทั้งอะดีนีน และไฮโปแซนทีนจะมีผลกระทบต่อระดับของกรดยูริกสูงกว่าเบสพิวรีนชนิดอื่นๆ (Bednarova et al. 2014; Ellington 2007) ดังนั้นการบริโภคเนื้อไก่แล้วทำให้เกิดกรดยูริกสูงน่าจะมีผลกระทบโดยตรงมาจากไฮโปแซนทีน เมื่อดูจากกลไกของการเกิดไฮโปแซนทีน พบว่าเกิดจากทั้งการเปลี่ยน IMP เป็น inosine โดยเอนไซม์ 5’nucleotidase จากนั้น inosine จะถูกเอนไซม์ PNP เร่งปฏิกิริยาเพื่อให้เปลี่ยนเป็น hypoxanthine หรือเกิดจากการเปลี่ยน IMP ให้เป็น AMP แล้วถูกเปลี่ยนต่อไปเป็น inosine หรือเกิดจากกระบวนการเปลี่ยนอะดีนีนเป็นไฮโปแซนทีนโดยเอนไซม์ ADP ดังนั้นจากการรวบรวมข้อมูลจะเห็นได้ว่า IMP นั้นเป็นสารตัวกลางสำคัญสำหรับการเปลี่ยนไปเป็นสารอนุพันธ์พิวรีนต่างๆ โดยการลด IMP น่าจะสามารถลดการสร้างสารอนุพันธ์พิวรีนได้ อย่างไรก็ตาม IMP เป็นสารที่เกี่ยวข้องกับรสชาติของเนื้อซึ่งสัมพันธ์กับการสร้างความอร่อยหรือเรียกว่า อูมามิในเนื้อไก่ โดยสารประกอบของอูมามิมี 2 กลุ่มคือ โมโนโซเดียมกลูตาเมต (monosodium glutamate) และ IMP ที่เกิดจากการย่อยสลาย ATP ของนิวคลีโอไทด์ในกล้ามเนื้อ (Zhang et al. 2008; Wang et al. 2014) ดังนั้นการที่จะลดสารอนุพันธ์พิวรีนหรือการลด IMP ในไก่เนื้ออาจจะมีผลกระทบต่อความอร่อยของเนื้อไก่ได้

จากการรวบรวมเอกสารงานวิจัยผลของการเสริม inosinic acid (IMP) และการใช้สารเสริมอาหาร (feed additives) ลงในอาหารไก่เนื้อดังแสดงไว้ในภาพที่ 2.9 และภาพที่ 2.10 พบว่าการ

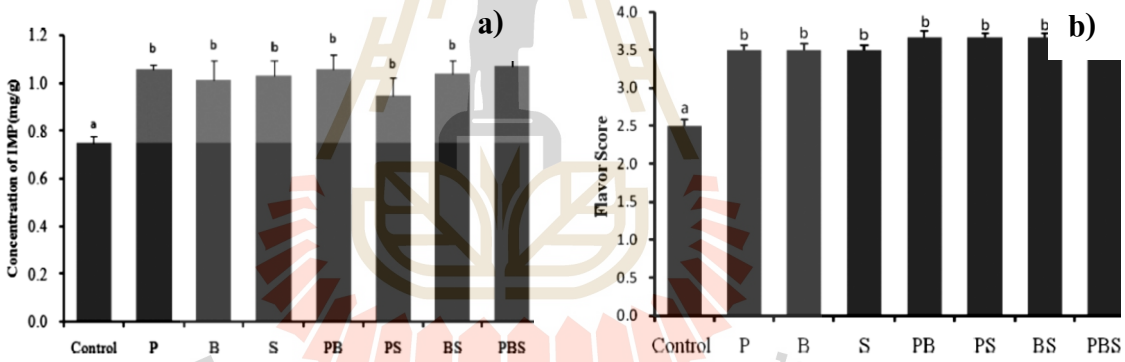
เสริม IMP มีผลทำให้เกิดการสะสม IMP ในเนื้ออก และเนื้อสะโพกของไก่เนื้อเพิ่มสูงขึ้น ($P<0.05$) อีกทั้งการเสริมสารพิวรีนนิวคลีโอไทด์ ส่งผลให้ IMP ของเนื้อส่วนอกเพิ่มสูงขึ้น ($P<0.05$) โดยทั้ง inosinic acid และสารพิวรีนนิวคลีโอไทด์นั้น ไม่มีผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต ลักษณะซาก และคุณภาพของเนื้อไก่ (Zhang et al. 2008; Wang et al. 2014) นอกจากนี้การใช้สารเสริมในกลุ่มของพิวรีนนิวคลีโอไทด์ ยังช่วยส่งผลให้เนื้อไก่มีรสชาติอร่อยมากขึ้น ซึ่งวัดจากระดับอูมามิที่เพิ่มขึ้นแตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($P<0.05$) (Wang et al., 2014) ดังแสดงไว้ในภาพที่ 2.10 อย่างไรก็ตาม นอกเหนือจาก IMP ที่มีผลต่อความอร่อยของเนื้อไก่ยังมีปัจจัยสำคัญอื่นที่สัมพันธ์กับความอร่อย คือ โมโนโซเดียมกลูตาเมท (monosodium glutamate) หรือกรดอะมิโนอิสระ เช่น กลูตามิก และกรดแอสปาร์ติก (Kawai et al. 2002; Rikimaru and Takahashi, 2010) การศึกษาของ Bednarova et al. (2014) พบว่าในเนื้ออกของไก่เนื้อมีโปรตีนรวมทั้งหมด 882.5 (g kg^{-1} DM):ซึ่งกรดอะมิโนส่วนใหญ่เป็นกลูตามิก ไลซีน แอสปาติก และลิวซีนเท่ากับ 130.1 81.8 77.6 และ 72.2 (g kg^{-1} DM) ตามลำดับสอดคล้องกับปริมาณกรดอะมิโนในเนื้อสะโพกของไก่เนื้อที่มีสารในกลุ่มของกลูตามิกสูงที่สุด (Rikimaru and Takahashi, 2010) นอกจากนี้ Kawai et al. (2002) รายงานว่า IMP จะช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพของกรดอะมิโนในการสร้างรสชาติ โดยชนิดของกรดอะมิโนที่มีความสัมพันธ์กับการเสริม IMP เช่นกลูตามิก ไกลซีน เซอรีน และอะลานีน เป็นต้น

ดังนั้นการลดอนุพันธ์พิวรีนในไก่เนื้อสามารถทำได้ แต่ในขณะเดียวกันอาจจะเกิดผลกระทบต่อปริมาณการสะสม IMP ในเนื้อ และส่งผลให้เนื้อไก่มีความอร่อยลดลง แต่อย่างไรก็ตามยังมีสารอื่นที่มีความสัมพันธ์กับรสชาติของเนื้อไก่ เช่นโมโนโซเดียมกลูตาเมต กรดอะมิโน (กลูตามิกและแอสปาติก) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าเมื่อทำการลด IMP และรักษาระดับของโมโนโซเดียมกลูตาเมตหรือกรดอะมิโนไว้ น่าจะไม่ส่งผลกระทบต่อรสชาติเนื้อ แต่ทั้งนี้ยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเนื่องจากยังมีข้อมูลจำกัด จากการรวบรวมข้อมูลพบว่าอาจจะสามารถลด IMP ในไก่เนื้อได้เพียงระดับหนึ่งเพราะถ้าลด IMP มากเกินไป จะส่งผลต่อรสชาติเนื้อได้



ภาพที่ 2.9 ผลของการเสริมกรดอิโนซินในอาหารต่อ จากการสะสมของอิโนซีนโมโฟอสเฟตในเนื้อไก่

ที่มา: Zhang et al. (2008)



ภาพที่ 2.10 ผลของความแตกต่างของสารเสริมอาหารนิวคลีโอไทด์ ต่อความเข้มข้นของ IMP ในเนื้อ อก (a) และรสอูมามิในเนื้ออกของไก่เนื้อ (b)

ที่มา: Wang et al. (2014)

หมายเหตุ : ^{a,b} Means with different superscripts in a row are significantly different ($P<0.05$). P = purine nucleotide, B = betaine, S = soybean isoflavone, PB = purine nucleotide + betaine, PS = purine nucleotide + soybean isoflavone, BS = betaine + soybean isoflavone and PBS = purine nucleotide + betaine + soybean isoflavone

ดังนั้นจากการประเมินความเป็นไปได้ในการลดปริมาณพิวรีนในไก่เนื้อ พบว่าปัจจัยที่จะสามารถช่วยให้ไก่เนื้อมีปริมาณพิวรีนลดลงน่าจะเกี่ยวข้องกับ การจัดการด้านอาหาร โดยปริมาณพิวรีนในสูตรอาหารไก่เนื้อมีผลโดยตรงของอนุพันธ์พิวรีน เช่น อะดีนีน กวานีน ไฮโปแซนทีน และแซนทีน ซึ่งอนุพันธ์พิวรีนเหล่านี้เป็นมีผลต่อการเกิดกรดยูริกในร่างกายของผู้บริโภคเนื้อไก่ ดังนั้นการทำสูตรอาหารไก่ที่สามารถลดระดับพิวรีน และอนุพันธ์พิวรีน น่าจะส่งผลให้ลดปริมาณพิวรีนในเนื้อไก่ได้ นอกจากนี้การลดระดับโปรตีนแต่ปรับโภชนะให้มีความสมดุลของกรดอะมิโนในสูตรอาหาร น่าจะสามารถลดการสะสมพิวรีนในเนื้อไก่โคราชได้ โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และคุณภาพเนื้อ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาวิจัยครั้งนี้แบ่งออกเป็น 2 คือ การทดลองที่ 1 ศึกษาปริมาณพิวรีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ และการทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการใช้สูตรอาหารพิวรีนต่ำ ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต คุณภาพเนื้อ และการสะสมพิวรีนในไก่โคราช

3.1 การทดลองที่ 1 : ศึกษาปริมาณพิวรีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาหาปริมาณพิวรีนในวัตถุดิบอาหารชนิดต่างๆ สำหรับใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการคัดเลือกวัตถุดิบอาหารสัตว์ ที่มีปริมาณพิวรีนที่เหมาะสมสำหรับนำมาประกอบสูตรอาหารไก่โคราช

3.1.1 การเตรียมตัวอย่างวัตถุดิบ

ทำการรวบรวมวัตถุดิบอาหารสัตว์แต่ละชนิดที่ต้องการศึกษา แล้วนำมาบดให้ละเอียดผ่านตะแกรงขนาด 1.0 มิลลิเมตร จากนั้นเก็บตัวอย่างใส่ถุงพลาสติกไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ทางเคมี ปริมาณพิวรีน อนุพันธ์พิวรีน และกรดยูริกต่อไป

3.1.2 การคัดเลือกวัตถุดิบอาหารสัตว์

การคัดเลือกชนิดของวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ใช้ในการทดลอง โดยจำแนกตามปริมาณของพิวรีนได้เป็น 2 กลุ่มได้แก่ กลุ่มวัตถุดิบที่มีปริมาณพิวรีนสูง ซึ่งส่วนใหญ่เป็นกลุ่มของวัตถุดิบแหล่งโปรตีน เช่น กากถั่วเหลือง ถั่วเหลืองไขมันเต็ม ปลาป่น และเนื้อป่น เป็นต้น และกลุ่มวัตถุดิบที่มีปริมาณพิวรีนปานกลางจนถึงต่ำ ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นกลุ่มของวัตถุดิบแหล่งพลังงาน เช่น ข้าวโพด รำข้าว ข้าวสาลี ข้าวฟ่าง และมันสำปะหลัง เป็นต้น จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณพิวรีนและอนุพันธ์พิวรีนประกอบด้วยอะดีนีน กวานีน แซนทีน และไฮโปแซนทีน ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมถรรนะสูง (high performance liquid chromatography; HPLC) ดัดแปลงจากวิธีของ Lou et al. (2005) และ Kaneko et al. (2014) หลักเกณฑ์การคัดเลือกวัตถุดิบอาหารสัตว์ เพื่อใช้ประกอบสูตรอาหารไก่โคราช จากการรวบรวมเอกสารพบว่าไฮโปแซนทีนสามารถเปลี่ยนไปเป็นแซนทีน โดยเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสและได้กรดยูริกเป็นผลผลิตสุดท้าย ดังนั้นการเลือกวัตถุดิบเพื่อประกอบสูตรอาหารไก่โคราชให้มีปริมาณพิวรีนต่ำ จึงพิจารณาจากปริมาณพิวรีนทั้งหมด และปริมาณอนุพันธ์พิวรีนคือ ไฮโปแซนทีนเป็นหลัก

3.1.3 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการโภชนศาสตร์สัตว์อาคารเครื่องมือ 10 และ 14 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.1.4 ระยะเวลาทำการทดลอง

การทดลองที่ 1 ตั้งแต่ช่วงเดือนพฤษภาคม 2561 ถึงเดือนมิถุนายน 2561

3.2 การทดลองที่ 2 : ศึกษาผลของการใช้สูตรอาหารพิวรีนต่ำ ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต คุณภาพเนื้อ และการสะสมพิวรีนในไก่โคราช

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาผลของการใช้สูตรอาหารพิวรีนต่ำ (ที่ได้จากการคัดเลือกวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีปริมาณพิวรีนต่ำ ในผลการทดลองที่ 1) ร่วมกับการลดระดับโปรตีนและการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ โดยศึกษาผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต การย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของสูตรอาหาร กรดยูริกในซีรั่ม และในมูล คุณภาพซาก คุณภาพเนื้อ การสะสมพิวรีนและอิโนซีนโมโนฟอสเฟตในเนื้อไก่โคราช

3.2.1 สัตว์ทดลอง

ใช้ไก่โคราชคละเพศอายุ 1 วัน จำนวน 480 ตัว น้ำหนักเริ่มต้น (39.0 ± 0.05) โดยแบ่งไก่ออกเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 6 ซ้ำ ๆ ละ 20 ตัว ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD โดยเลี้ยง (ไก่ในคอกแบบปล่อยพื้นขนาด 2 × 2 เมตร และมีแกลบเป็นวัสดุรองพื้น การทดลองมีระยะเวลา 12 สัปดาห์ โดยแบ่งออกเป็น 4 ช่วงอายุ คือ 0-3 3-6 6-9 และ 9-12 สัปดาห์ ซึ่งไก่ทุกตัวได้รับอาหารและน้ำอย่างเต็มที่ตลอดการทดลอง (*ad libitum*) การใช้โรงเรือน และการจัดการให้อาหารได้ปฏิบัติตามคำแนะนำ ภายใต้การควบคุมของฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี เมื่อไก่อายุ 7 และ 21 วัน จะได้รับวัคซีนรวมป้องกันโรคนิวคาสเซิล และโรคหลอดลมอักเสบโดยใช้วิธีการหยอดวัคซีนที่จมูกหรือตาไก่ เมื่อไก่อายุ 14 วันจะฉีดวัคซีนป้องกันโรคกัมโบโร และเมื่อไก่อายุ 35 วัน จะได้รับวัคซีนฝีดาษโดยการแทงปีก

3.2.2 อาหารทดลอง

สูตรอาหารทั้งหมดคำนวณให้มีระดับของพลังงานเท่ากัน และมีองค์ประกอบของโภชนะเพียงพอกับความต้องการของสัตว์ ตามคำแนะนำของ NRC (1994); Maliwan et al. (2017) ซึ่งสูตรอาหารพิวรีนต่ำ มาจากการคัดเลือกวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีพิวรีนต่ำมาประกอบเป็นสูตรอาหารทดลอง โดยการประกอบสูตรอาหารที่มีระดับพิวรีนลดลงจากกลุ่มควบคุม (control) สัดส่วน 15 30 และ 45% ตามลำดับ ส่วนสูตรอาหารโปรตีนต่ำ (low protein diets) มีการลดระดับโปรตีน 1.5 และ 3.0 จากกลุ่มควบคุม % ตามลำดับ และจากสูตรอาหารโปรตีนต่ำมีการเสริมกรดอะมิโน

สังเคราะห์ เพื่อให้มีสมดุลของกรดอะมิโนเพียงพอต่อความต้องการของสัตว์ รายละเอียดสูตรอาหารทดลอง ดังแสดงไว้ในตารางที่ 3.1 โดยอาหารที่ใช้ในการทดลองแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ประกอบด้วย

กลุ่มที่ 1: สูตรควบคุม (ข้าวโพด-กากถั่วเหลือง)

กลุ่มที่ 2: สูตรอาหารพิวรีนต่ำ (ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 15%)

กลุ่มที่ 3: สูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนลง 1.5% (พิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 30%)

กลุ่มที่ 4: สูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนลง 3.0% (พิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 45%)

3.2.3 การเก็บข้อมูล

3.2.3.1 การศึกษาด้านสมรรถนะการเจริญเติบโต (growth performance)

ทำการบันทึกข้อมูลโดยชั่งน้ำหนักตัวไก่ และปริมาณอาหารที่กินทุกช่วงอายุ 0-3 3-6 6-9 และ 9-12 สัปดาห์ เพื่อคำนวณอัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (FCR) ของแต่ละกลุ่มทดลองส่วนอัตราการตายบันทึกทุกครั้งที่มีไก่ตาย

สูตรที่ใช้ในการคำนวณ

1) น้ำหนักต่อตัว (Body weight, BW) = $\frac{\text{น้ำหนักไก่ทั้งหมด}}{\text{จำนวนไก่ทั้งหมด}}$

2) ปริมาณอาหารที่กินต่อตัว (Feed intake, FI) = $\frac{\text{ปริมาณอาหารที่ให้} - \text{ปริมาณอาหารที่เหลือ}}{\text{จำนวนไก่ทั้งหมด}}$

3) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (Feed convention ratio, FCR) = $\frac{\text{ปริมาณอาหารที่กิน}}{\text{น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น}}$

3.2.3.2 การศึกษาค่าทางชีวเคมีของโลหิต

เมื่อไก่โคราชมีอายุ 3 6 9 และ 12 สัปดาห์ตามลำดับ ทำการสุ่มไก่ออกกลุ่มละ 2 ตัวต่อซ้ำ (เพศผู้และเพศเมีย อย่างละ 1 ตัว) ทั้งหมด 48 ตัว โดยสุ่มไก่ให้มีน้ำหนักตัวใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ยของไก่ทั้งหมดของกลุ่มอาหารทดลอง ทำการอดอาหารไก่เป็นเวลา 12 ชั่วโมง (ไก่ได้รับน้ำตลอดเวลา) เพื่อทำการเก็บตัวอย่างเลือด โดยใช้เข็มฉีดยาเบอร์ 24 เจาะที่เส้นเลือด wing vein หรือ jugular vein ปริมาณ 3-5 มิลลิลิตร เก็บเลือดภายในหลอดมีสารเร่งการแข็งตัวของเลือด (clot activator) ตั้งทิ้งไว้ใน

ตารางที่ 3.1 ส่วนประกอบของสูตรอาหารไก่โคราชช่วงอายุ 0 ถึง 12 สัปดาห์

Items	Starter (0 - 3 weeks)				Grower (3 - 6 weeks)				Finisher (6 -12weeks)			
	Low Purine Diets [1/]				Low Purine Diets [1/]				Low Purine Diets [1/]			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
Ingredients (%)												
Corn	53.84	50.56	57.15	60.26	53.33	49.00	55.52	61.89	61.10	54.84	61.27	64.70
SBM 44% CP	37.77	28.24	22.12	16.17	36.05	27.07	21.09	15.18	29.39	21.64	15.72	11.74
Rice bran oil	3.85	2.34	1.07	0.00	6.38	4.93	3.70	2.51	5.68	4.60	3.40	2.79
Rice bran	0.00	4.00	4.00	4.00	0.00	4.06	4.06	4.06	0.00	3.63	3.63	3.63
Cassava chip	0.00	2.75	2.75	5.62	0.00	3.44	3.44	3.44	0.00	5.00	5.00	6.50
Corn DDGS	0.00	2.57	2.57	2.68	0.00	2.20	2.20	2.20	0.00	2.20	2.20	2.20
Corn gluten	0.00	4.58	4.65	4.84	0.00	4.80	4.80	4.80	0.00	4.00	4.00	3.00
Calcium carbonate	1.55	1.58	1.60	1.60	1.35	1.38	1.39	1.42	1.26	1.26	1.28	1.29
Dicalcium Phosphorus	1.59	1.66	1.72	1.77	1.51	1.56	1.61	1.68	1.26	1.30	1.35	1.41
Salt	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Premix *	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
L-Lysine HCl	0.05	0.24	0.41	0.58	0.05	0.22	0.39	0.56	0.06	0.21	0.38	0.51
DL-Methionine	0.28	0.25	0.28	0.33	0.21	0.18	0.20	0.24	0.13	0.10	0.13	0.18
L-Arginine	0.00	0.09	0.25	0.41	0.00	0.00	0.16	0.31	0.00	0.06	0.21	0.34
L-Valine	0.00	0.01	0.10	0.19	0.00	0.00	0.09	0.17	0.00	0.00	0.10	0.19
L-Tryptophan	0.00	0.01	0.05	0.09	0.00	0.02	0.06	0.09	0.00	0.02	0.05	0.08
L-Isoleucine	0.00	0.01	0.10	0.20	0.00	0.00	0.07	0.16	0.00	0.00	0.06	0.15
L-Threonine	0.07	0.11	0.18	0.26	0.12	0.14	0.22	0.29	0.12	0.14	0.22	0.29
The ratio of purine [2/]		**15%**	**30%**	**45%**		**15%**	**30%**	**45%**		**15%**	**30%**	**45%**

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

Items	Starter (0 - 3 weeks)				Grower (3 - 6 weeks)				Finisher (6 -12weeks)			
	Low Purine Diets [1/]				Low Purine Diets [1/]				Low Purine Diets [1/]			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
Calculated composition (%)												
ME, kcal/kg	2,990	2,990	2,990	2,990	3,151	3,151	3,151	3,151	3,200	3,200	3,200	3,200
Crude protein	21.26	21.26	19.76	18.26	20.45	20.45	18.95	17.45	18.00	18.00	16.50	15.00
Calcium	1.00	1.00	1.00	1.00	0.90	0.90	0.90	0.91	0.80	0.80	0.80	0.80
Avail. Phosphorus	0.48	0.48	0.48	0.48	0.46	0.46	0.46	0.46	0.39	0.39	0.39	0.39
Digestible Lysine	1.07	1.07	1.07	1.06	1.03	1.03	1.03	1.03	0.89	0.89	0.89	0.89
Digestible Methionine	0.57	0.57	0.57	0.6	0.49	0.49	0.49	0.51	0.38	0.38	0.38	0.40
Digestible Methionine + cystine	0.84	0.85	0.83	0.83	0.75	0.77	0.74	0.74	0.62	0.63	0.60	0.60
Analyzed composition (%)												
Dry matter	91.12	91.36	91.45	92.46	91.19	91.33	91.31	91.18	91.17	91.19	91.98	90.73
Crude protein	21.83	21.99	20.51	18.97	20.61	20.85	19.34	17.65	18.61	18.72	16.68	15.63
Crude fat	4.80	5.82	4.56	3.57	9.32	8.70	7.52	6.62	8.86	8.54	6.88	7.19
Total purine in diets (mg/100g)	166.92	131.98	111.60	88.65	135.51	117.94	90.36	79.46	164.46	144.21	115.79	85.37

หมายเหตุ :* Premix (0.5%) provided the following (per kg of diet) : vitamin A, 15,000 IU; vitamin D3, 3,000 IU; vitamin E, 25 IU; vitamin K3, 5 mg; vitamin B1, 2 mg; vitamin B2, 7 mg; vitamin B6, 4 mg; vitamin B12, 25 mg; pantothenic acid, 11.04 mg; nicotinic acid, 35 mg; folic acid, 1 mg; biotin, 15 µg; choline chloride, 250 mg; Cu, 1.6 mg; Mn, 60 mg; Zn, 45 mg; Fe, 80 mg; I, 0.4 mg; Se, 0.15 mg.

[1/]T1: สูตรควบคุม (ข้าวโพด-กากถั่วเหลือง); T2: สูตรอาหารพิวรีนต่ำ (ต่ำกว่ากลุ่มควบคม 15%); T3: สูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนลง 1.5% (พิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 30%); T4: สูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนต่ำลง 3.0% (พิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 45%)

[2/] The ratio of purine: calculated from the combined amounts of the total purine of each feedstuff and then calculate of purine ratio can reduce in diets.

อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างเลือดไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,500 rpm อุณหภูมิ 4 อาศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จะได้ส่วนของซีรั่ม (serum) แยกออกมาจากเม็ดเลือดแดง จากนั้นดูดเก็บ ตัวอย่างซีรั่มไว้ในหลอดทดลอง ขนาด 1.5 มิลลิลิตร (micro tube) และเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยาได้แก่ ซีรั่มยูเรียไนโตรเจน (serum urea nitrogen) และซีรั่มกรดยูริก (serum uric acid)

3.2.3.3 การศึกษาย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ และปริมาณกรดยูริกในมูล (uric excreta)

ทำการสุ่มไก่ที่อายุ 9 สัปดาห์ จำนวน 48 ตัว กลุ่มละ 2 ตัวต่อคอก (เพศผู้และเพศเมีย อย่างละ 1 ตัว) ขึ้นเลี้ยงบนกรงขังเดี่ยว (individual cage) ตามกลุ่มอาหารทดสอบเดิม และในอาหารแต่ละกลุ่มมีการผสมไททาเนียมไดออกไซด์ 0.3% (titanium dioxide; TiO_2) เพื่อเป็นตัวบ่งชี้การวัดการย่อยได้ของโภชนะในอาหารของสัตว์ ไก่ทุกตัวได้รับอาหาร และน้ำอย่างเต็มที่ตลอดการทดลอง (*ad libitum*) โดยเลี้ยงปรับให้ไก่ชินกับสภาพแวดล้อมบนกรง 5 วัน หลังจากนั้นช่วง 4 วันสุดท้ายของการทดลอง ทำการเก็บมูลบางส่วนประมาณ 50 กรัม ในถาดพลาสติกที่รองไว้ใต้กรง โดยหลีกเลี่ยงการเก็บมูลที่มีการปะปนของอาหาร ขน และเกล็ด ทำการสเปรย์มูลที่เก็บด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 5% (5% HCl) เพื่อป้องกันการสูญเสียไนโตรเจน และนำมูลของไก่ไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 55-60 องศาเซลเซียส แล้วนำมาบดให้ละเอียดผ่านตะแกรงขนาด 1.0 มิลลิเมตร จากนั้นเก็บมูลใส่ถุงพลาสติกไว้เพื่อรอการวิเคราะห์ทางเคมี

โดยวิธีวิเคราะห์โดยประมาณ (proximate analysis) ตามวิธีการของ AOAC (2000) ซึ่งในอาหาร และในมูลวิเคราะห์หาค่าความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า และพลังงานรวม โดยเครื่อง adiabatic bomb calorimeter (IKA 6000) และวิเคราะห์กรดยูริกในมูล ดัดแปลงวิธีการจาก Lou et al. (2005) และวิเคราะห์การย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ Short et al. (1996) ดังสูตรคำนวณต่อไปนี้

สูตรที่ใช้ในการคำนวณ

$$\text{ค่าการย่อยได้ (digestibility \%)} = 100 - \frac{(\%\ \text{marker feed} \times \%\ \text{nutrient excreta})}{(\%\ \text{marker excreta} \times \%\ \text{nutrient feed})} \times 100$$

3.2.3.4 การศึกษาด้านคุณภาพซาก (carcass quality)

เมื่อไก่โคราชอายุครบ 9 และ 12 สัปดาห์ ทำการสุ่มไก่ กลุ่มละ 2 ตัวต่อซ้ำ (เพศผู้ และเพศเมีย อย่างละ 1 ตัว) ทั้งหมด 48 ตัว โดยสุ่มไก่ให้มีน้ำหนักตัวใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ยของไก่ทั้งหมดของกลุ่มอาหารทดลอง ทำการอดอาหารไก่เป็นเวลา 12 ชั่วโมง (ไก่ได้รับน้ำตลอดเวลา) จากนั้นทำการชั่งน้ำหนักไก่มีชีวิต และทำการฆ่าโดยวิธีเชือดที่เส้นเลือดใหญ่บริเวณคอ (jugular

vein) ทำการลวกน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส นานประมาณ 1 นาที และทำการถอนขน จากนั้นทำการเปิดซาก เอาอวัยวะเครื่องในออก บันทึกน้ำหนักเครื่องใน ไขมันช่องท้อง และน้ำหนักซากก่อนแช่เย็น จากนั้นนำซากไปแช่ที่ห้องเย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากครบกำหนดทำการตัดแต่ง และแยกชิ้นส่วนของซากไก่ได้แก่ กล้ามเนื้อส่วนอก (breast) กล้ามเนื้อส่วนสะโพก (thigh) และกล้ามเนื้อน่อง (drumstick) ทำการชั่งน้ำหนักของชิ้นส่วนไก่เพื่อนำมาคำนวณเปอร์เซ็นซาก (% dressing yield) และเปอร์เซ็นเครื่องใน (% giblets yield)

สูตรที่ใช้ในการคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นซาก (\% dressing yield)} = \frac{\text{(น้ำหนักซาก ไม่รวมเครื่องใน คอ และแข้ง)}}{\text{(น้ำหนักมีชีวิต)}} \times 100$$

3.2.3.5 การศึกษาด้านคุณภาพเนื้อ (meat quality): การวัดความเป็นกรดด่าง ค่าการสูญเสียน้ำ การวัดสีเนื้อ การวัดแรงตัดผ่านเนื้อ และองค์ประกอบทางโภชนะในเนื้อไก่

1) การวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (ค่า pH)

การวัดค่า pH จะใช้เนื้ออก โดยทำการวัดค่า pH หลังเชือด 45 นาที จากนั้นนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และวัดค่า pH ซ้ำอีกครั้ง โดยใช้เครื่องมือวัด pH meters ซึ่งต้องวัดตัวอย่างที่จุดเดียวกัน โดยแต่ละตัวอย่างทำการวัดค่าทั้งหมด 3 ครั้ง เพื่อหาค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง

2) การวัดสีเนื้อ (color value)

การวัดสีของเนื้อจะทำการเปรียบเทียบสีของเนื้ออก ด้วยเครื่อง Miniscan EZ 4500S Spectrophotometer โดยตำแหน่งที่ทำการวัด ในแต่ละตัวอย่างจะเป็นตำแหน่งเดิมเดียวกัน ซึ่งทำการวัดซ้ำ 3 จุด ค่าที่วัดจะจำแนกออกเป็น ค่า L* (lightness) ค่า a* (redness) และค่า b* (yellowness) ดังนี้

L* คือ ค่าความสว่างของสี มีค่าจาก 0 (คือ สีดำ) ถึง 100 (คือ สีขาว)

a* คือ ค่าที่แสดงถึงความเป็นสีเขียวและสีแดง โดยค่าที่เป็นบวก (+) แสดงถึงความเป็นสีแดง ค่าที่เป็นลบ (-) แสดงถึงความเป็นสีเขียว

b* คือ ค่าที่แสดงถึงความเป็นสีเหลืองและสีน้ำเงิน โดยค่าที่เป็นบวก (+) แสดงถึงความเป็นสีเหลือง ค่าที่เป็นลบ (-) แสดงถึงความเป็นสีน้ำเงิน

3) การวัดค่าการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บ (drip loss)

โดยใช้เนื้อส่วนอก ซับให้แห้ง ทำการตัดชิ้นเนื้อให้มีขนาดใกล้เคียงกัน บันทึกน้ำหนักของเนื้อห่อด้วยผ้าก๊อซ 2 ชั้น พันอีกครั้งด้วยถุงพลาสติก นำไปแขวนในห้องเย็น

อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลากำหนดนำมาชั่งน้ำหนัก บันทึกข้อมูลของน้ำหนักก่อนและหลังแช่เย็น เพื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำในระหว่างการเก็บ ตามวิธีการของ Zhang et al. (2006)

สูตรที่ใช้ในการคำนวณ

$$\text{การสูญเสียน้ำในระหว่างการเก็บ (\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักก่อนแช่เย็น} - \text{น้ำหนักหลังแช่เย็น})}{(\text{น้ำหนักก่อนแช่เย็น})} \times 100$$

4) การวัดค่าการสูญเสียน้ำหลังการต้ม (cooking loss)

นำชิ้นเนื้อไก่สดส่วนเนื้ออก ทำการตัดชิ้นเนื้อให้มีขนาดใกล้เคียงกัน ชั่งน้ำหนัก และบรรจุใส่ถุงพลาสติก นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส ในอ่างให้ความร้อน (water bath) เป็นเวลา 45 นาที จากนั้นนำเนื้อไก่แช่ในน้ำเย็นทันทีเป็นเวลา 10 นาที ชั่งน้ำหนักตัวอย่างหลังการต้ม บันทึกข้อมูลน้ำหนักก่อนต้ม และน้ำหนักหลังการต้ม เพื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักหลังการต้ม

สูตรที่ใช้ในการคำนวณ

$$\text{การสูญเสียน้ำหนักหลังการต้ม (\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนต้น} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังต้ม})}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนต้ม}} \times 100$$

5) การวัดแรงตัดผ่านเนื้อ (shear forces)

เนื้ออกต่อจาก (3.2.3.5 ข้อที่ 4) นำเนื้อมาตัดแต่งให้มีขนาด 1.0 x 2.0 x 0.5 เซนติเมตร Dawson et al. (1991) นำเนื้อไปวัดค่าแรงตัดผ่านด้วยเครื่อง Texture analysis รุ่น TA-XT2i โดยกำหนดอัตราการเคลื่อนที่ของใบมีด 2 มิลลิเมตร/วินาที ดัดแปลงวิธีการของ Wattanachant et al. (2004)

3.2.3.6 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณพิวรีน อนุพันธ์พิวรีน และอิโนซีนโมโนฟอสเฟตในเนื้อไก่โคราช ช่วงอายุ 9 และ 12 สัปดาห์

เมื่อไก่โคราชอายุครบ 9 และ 12 สัปดาห์ ทำการสุ่มไก่ กลุ่มละ 2 ตัวต่อซ้ำ (เพศผู้ และเพศเมียอย่างละ 1 ตัว) ทั้งหมด 48 ตัว โดยสุ่มไก่ให้มีน้ำหนักตัวใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ยของไก่ทั้งหมด ทำการอดอาหารไก่เป็นเวลา 12 ชั่วโมง (ไก่ได้รับน้ำตลอดเวลา) ทำการสลบไก่ด้วยคลอโรฟอร์ม และฆ่าโดยวิธีเชือดที่เส้นเลือดใหญ่บริเวณคอ (jugular vein) เก็บตัวอย่างบริเวณเนื้ออก และเนื้อสะโพกบรรจุในถุงพลาสติกปิดสนิท และเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

1) การเตรียมตัวอย่างเนื้อไก่โคราช

โดยนำเนื้ออก และเนื้อสะโพกเนื้อสดมาบด และนำตัวอย่างเนื้อไปทำให้แห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบเยือกเย็น (freeze dry) รุ่น (ALPHA 2-4 LSC plus) จนกว่าตัวอย่างแห้งสนิท และบดตัวอย่างให้ละเอียด จากนั้นเก็บตัวอย่างเนื้อใส่ถุงพลาสติก และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ทางเคมี พิวรีน อนุพันธ์พิวรีน และอิโนซีนโมโนฟอตเฟตในเนื้อ

2) การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

เพื่อวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อไก่โคราช โดยวิเคราะห์หาค่าความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า ด้วยวิธีวิเคราะห์โดยประมาณตามวิธีการของ AOAC (2000)

3) การวิเคราะห์พิวรีน และอนุพันธ์พิวรีน อิโนซีนโมโนฟอสเฟตในเนื้อไก่โคราช

โดยนำตัวอย่างเนื้ออก และเนื้อสะโพกในเนื้อไก่โคราชที่อายุ 9 และ 12 สัปดาห์ ตามวิธีการในหัวข้อ (3.2.3.6 ข้อที่ 1) มาวิเคราะห์ปริมาณพิวรีน และอนุพันธ์พิวรีนโดยดัดแปลงวิธีการของ Lou et al. (2005) เพื่อหาปริมาณอะดีนีน กวานีน แซนทีน และไฮโปแซนทีน และวิเคราะห์ปริมาณ อิโนซีนโมโนฟอสเฟต โดยดัดแปลงวิธีการของ จิรวัฒน์ และคณะ (2557) ซึ่งวิธีการวิเคราะห์ผลแสดงในบทภาคผนวกท้ายเล่ม

3.2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้นำไปวิเคราะห์ทางสถิติหาค่าความแปรปรวนของค่าเฉลี่ย (analysis of variance; ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) และวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยในแต่ละปัจจัยการทดลองด้วยวิธี Tukey's multiple range test (Tukey's) และวิเคราะห์การใช้สูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ที่ระดับต่างๆ ด้วยวิธี orthogonal contrasts ประกอบด้วย 1) กลุ่มอาหารควบคุม vs. กลุ่มอาหารอื่นๆ 2) กลุ่มอาหารพิวรีน (ลดระดับพิวรีน 15% vs. 30, 45%) และ 3) กลุ่มอาหารโปรตีน (ลดระดับโปรตีน 1.5 vs. 3.0%) โดยใช้โปรแกรมสถิติสำเร็จรูป SPSS 18.0 โดยทดสอบที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.05$)

3.2.5 สถานที่ทำการทดลอง

1. ห้องปฏิบัติการโภชนศาสตร์สัตว์อาคารเครื่องมือ 3 10 และ 14 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2. งานสัตว์ปีก ฟาร์มมหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.2.6 ระยะเวลาทำการทดลอง

การทดลองที่ 2 ตั้งแต่ช่วงเดือนกรกฎาคม 2561 ถึงเดือนตุลาคม 2561

บทที่ 4
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลการศึกษาปริมาณพิวรีน และอนุพันธ์พิวรีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์

จากผลการศึกษาปริมาณพิวรีนและอนุพันธ์พิวรีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ ดังแสดงในตารางที่ 4.1 จากการจัดกลุ่มตาม Kaneko et al. (2014) พบว่าวัตถุดิบอาหารสัตว์แหล่งพลังงาน เช่น ข้าวโพด มันสำปะหลัง หรือรำข้าว มีปริมาณพิวรีนอยู่ในกลุ่มที่ 1 ซึ่งมีปริมาณพิวรีนน้อยกว่า 50 mg/100 g ส่วนวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มาจากแหล่งโปรตีน เช่น เนื้อป่น หรือกากถั่วเหลือง มีปริมาณพิวรีนในกลุ่มที่ 3 พบว่ามีปริมาณพิวรีนในระดับปานกลาง อยู่ในช่วง 100-200 mg/100 g ซึ่งค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับวัตถุดิบอาหารสัตว์ในกลุ่มพลังงาน โดยปริมาณพิวรีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ได้จากการวิเคราะห์ครั้งนี้มีค่าใกล้เคียงที่ได้รายงานโดย Kaneko et al. (2014) นอกจากนี้เมื่อคำนวค่าพิวรีนดังกล่าวเป็นปริมาณกรดยูริกที่คาดว่าจะถูกเปลี่ยนแปลง โดยร่างกายพบว่าวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีปริมาณพิวรีนในกลุ่มที่ 3 ก่อให้เกิดกรดยูริกในร่างกายที่สูงกว่าวัตถุดิบอาหารกลุ่มอื่นๆ

โดยปกติพิวรีนในร่างกายมาจาก 2 แหล่ง คือ จากการที่ร่างกายสร้างขึ้นเอง 80% และการได้รับจากอาหารประมาณ 20% (Zhoa et al. 2005) ดังนั้นการคัดเลือกวัตถุดิบอาหารที่มีพิวรีนต่ำเพื่อประกอบสูตรอาหาร จึงน่าจะเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการลดการสะสมพิวรีนในเนื้อไก่ อย่างไรก็ตามการพิจารณาเพียงปริมาณพิวรีนทั้งหมดในวัตถุดิบอาหารสัตว์อาจไม่เพียงพอ ควรพิจารณาถึงระดับของไฮโปแซนทีนด้วย เนื่องจากมีการรายงานว่า ไฮโปแซนทีนเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเกิดกรดยูริกมากกว่าเบสพิวรีนอื่นๆ ในที่ผู้ป่วยโรคเก๊าท์หรือผู้ป่วยที่มีภาวะกรดยูริกเลือดสูง (Brulé et al. 1992; Clifford et al. 1976) โดยวัตถุดิบที่มีสัดส่วนของไฮโพแซนทีนต่อพิวรีนทั้งหมดสูง ได้แก่ กากถั่วเหลืองไขมันเต็ม ปลาป่น หรือเนื้อป่น ซึ่งมีค่าเป็น 2.86 3.97 และ 6.94 mg/100 g ตามลำดับ โดยส่วนใหญ่จะเห็นได้ว่าเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์แหล่งโปรตีน ซึ่งบทบาทการทำงานของโปรตีน และพิวรีนมีการทำงานเกี่ยวเนื่องกัน ดังนั้นการลดระดับโปรตีนในสูตรอาหารโดยลดการใช้วัตถุดิบแหล่งโปรตีน และเสริมด้วยกรดอะมิโนสังเคราะห์ เพื่อเพิ่มความสมดุลกรดอะมิโนจึงอาจเป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถลดปริมาณพิวรีนในสูตรอาหารลงได้

ตารางที่ 4.1 ปริมาณพิวรีนและอนุพันธ์พิวรีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ (mg/100 g)

Feedstuffs	A[1/]	G[2/]	H[3/]	X[4]	Total purine[5/]	Calculated as uric acid6[6/]	Classified groups[7/]
Full fat soybean	97.14	2.93	2.86	2.72	105.65	123.41	3
Meat meal	66.69	24.41	6.94	7.89	105.93	123.74	3
Soybean meal, 44%	92.00	13.66	0.38	3.19	109.23	127.59	3
Fish meal, 60%	25.94	10.39	3.97	2.85	43.15	50.40	2
Corn DDGS	29.70	6.27	0.05	2.83	38.85	45.38	2
Rice bran	9.57	3.02	1.36	0.91	14.86	17.36	1
Wheat	4.79	1.64	0.24	0.40	7.07	8.26	1
Corn gluten	4.75	2.00	0.11	1.02	7.88	9.21	1
Corn	3.70	0.90	0.56	0.35	5.51	6.44	1
White sorghum	2.77	0.63	0.52	0.30	4.22	4.93	1
Cassava chip	1.81	0.07	1.35	0.12	3.35	3.91	1

หมายเหตุ: [1/]A= Adenine, [2/]G= Guanine, [3/]H= Hypoxanthine, and [4/]X= Xanthine

[5/]The total purine calculated from the combined amounts of adenine, guanine, hypoxanthine, and xanthine.

[6/]The calculated uric acid is the amount of uric acid produced in the purine metabolic pathway in the body, calculated as uric acid (mg/100 g) = (MW. uric acid (168.1 g/mol) × total purines (μmol/100 g)) /1,000.

[7/]Classification according to purine content; 1 = the very low group: less than 50 mg/100g, 2 = the low group: 50-100 mg/100g and 3 = the moderate group: 100-200 mg/100g.

4.2 ผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตคุณภาพซาก คุณภาพเนื้อ และการสะสมพิวรีนในเนื้อของไก่โคราช

4.2.1 ผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต

การศึกษาครั้งนี้ ทำการลดพิวรีนในสูตรอาหารลงในระดับ 15 30 และ 45% จากกลุ่มควบคุมทั้งในรูปของการคัดเลือกวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีพิวรีนต่ำเพื่อประกอบสูตรอาหาร (T2 = พิวรีน

ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 15%) และการลดระดับโปรตีนร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ (T3 และ T4 ซึ่งมีพิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 30 และ 45% ตามลำดับ) โดยศึกษาผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่โคราช ตลอดช่วงอายุ 0 ถึง 12 สัปดาห์ (ตารางที่ 4.2) พบว่าการลดพิวรีนในสูตรอาหารทุกระดับ (15-45% จากกลุ่มควบคุม) ไม่ส่งผลกระทบต่อน้ำหนักตัว ปริมาณการกินได้ อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (FCR) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

ซึ่งเป็นที่ทราบกันอยู่แล้วว่าพิวรีนเป็นสารที่ร่างกายสามารถสังเคราะห์ได้เองประมาณ 80% และได้รับจากอาหารประมาณ 20% จากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่า สามารถลดระดับพิวรีนในสูตรอาหารถึง 45% จากกลุ่มควบคุม โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจิญเติบโต ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่า พิวรีนในอาหารส่วนที่ลดลงถึง 45% ยังไม่มีผลกระทบต่อการสร้างสารพันธุกรรมภายในเซลล์ เพื่อนำไปใช้ในการเจริญเติบโตของไก่โคราช อีกประเด็นหนึ่งที่อาจมีความเป็นได้คือไก่โคราชเป็นไก่พื้นเมืองเลือดผสม (50%) ซึ่งเจริญเติบโตช้า เมื่อเทียบกับไก่เนื้อที่มีอัตราการเจริญเติบโตเร็ว ดังนั้นการลดระดับพิวรีนลงถึง 45% จึงอาจยังไม่มีผลกระทบ ในขณะที่ในไก่เนื้อซึ่งมีการรายงานว่า เป็นไก่สายพันธุ์ที่โตเร็วจึงมีความต้องการสารพิวรีนเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตที่สูงกว่า แต่อย่างไรก็ตามปริมาณความต้องการดังกล่าวยังไม่มีการรายงานตัวเลขที่ชัดเจน (Daneshmand et al. 2017)

การลดระดับโปรตีนร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ในอาหาร เพื่อเพิ่มความสมดุลของกรดอะมิโนให้ได้ตามความต้องการของไก่โคราช เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าจะสามารถลดปริมาณพิวรีนที่สะสมในเนื้อไก่ได้ เนื่องจากโดยปกติความต้องการโปรตีนในไก่แท้ที่จริงแล้วเป็นความต้องการกรดอะมิโน ซึ่งมีรายงานผลการศึกษาของ Swennen et al. (2005); Namroud et al. (2008); Ardekani and Chamani (2012); Kobayashi et al. (2013) รายงานว่าการใช้อาหารโปรตีนต่ำร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าในงานทดลองนี้จะสามารถลดโปรตีนได้ถึงระดับ 3.0% ตลอดช่วงอายุการเลี้ยง 12 สัปดาห์ แต่อย่างไรก็ตามควรคำนึงถึงต้นทุนค่าอาหารด้วย เพราะการลดระดับโปรตีนที่มากเกินไปจำเป็นต้องเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ที่หลากหลายชนิดมากขึ้น เพื่อสร้างความสมดุลในสูตรอาหารโดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดอะมิโนจำเป็นบางตัวที่ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์เองได้ เช่น อาร์จีนีน วาลีน ทริปโตเฟน หรือไอโซลิวซีนที่ยังมีราคาค่อนข้างแพง เมื่อเปรียบเทียบกับกรดอะมิโนสังเคราะห์ไลซีน เมทไธโอนีน หรือทรีโอนีนที่สามารถผลิตได้ในระดับอุตสาหกรรม (commercial scale) และมีราคาที่ไม่แพงมาก ดังนั้นการคัดเลือกวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีกรดอะมิโนในกลุ่มที่ยังไม่สามารถผลิตได้ในระดับอุตสาหกรรม เช่น อาร์จีนีน วาลีน ทริปโตแฟน และอื่นๆ เป็นอีกแนวทางหนึ่งที่สามารถลดต้นทุนค่าอาหารได้

ตารางที่ 4.2 ผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่โคราช (0 ถึง 12 สัปดาห์)

Items[1/]	Low purine diets[2/]				Pooled SEM[3/]	P-value
	T1	T2	T3	T4		
Body weight (g/bird)						
0 day old	39.0	39.0	39.0	39.0	0.05	0.997
0 - 3 weeks	268.8	271.4	269.8	264.2	1.88	0.451
0 - 6 weeks	694.6	691.7	691.0	688.5	5.22	0.857
0 - 9 weeks	1,185.0	1,184.3	1,170.2	1,164.1	12.78	0.851
0 - 12 weeks	1,698.8	1,702.5	1,680.7	1,683.1	24.60	0.988
Body weight gain (g/bird)						
0 - 3 weeks	231.8	232.3	232.3	226.6	2.08	0.75
0 - 6 weeks	656.1	649.9	645.6	638.1	5.26	0.67
0 - 9 weeks	1,153.1	1,145.2	1,128.8	1,099.7	11.62	0.40
0 - 12 weeks	1,674.5	1,693.2	1,652.1	1,585.1	21.43	0.27
Average daily gain (g/d)						
0 - 3 weeks	11.0	11.1	11.0	11.0	0.08	0.99
0 - 6 weeks	15.6	15.5	15.5	15.2	0.11	0.60
0 - 9 weeks	18.2	18.2	18.0	18.0	0.21	0.98
0 - 12 weeks	19.5	19.3	19.1	18.9	0.22	0.78
Cumulative feed intake (g/bird)						
0 - 3 weeks	481.1	488.4	494.1	517.6	6.62	0.25
0 - 6 weeks	1,339.8	1,383.6	1,447.5	1,449.9	19.25	0.10
0 - 9 weeks	2,717.0	2,708.9	2,748.1	2,737.3	29.49	0.97
0 - 12 weeks	4,507.6	4,553.9	4,557.7	4,488.6	51.17	0.96
FCR, g of feed/g of BWG						
0 - 3 weeks	2.08	2.10	2.13	2.28	0.03	0.06
0 - 6 weeks	2.04	2.13	2.24	2.27	0.04	0.09
0 - 9 weeks	2.36	2.37	2.43	2.49	0.03	0.27
0 - 12 weeks	2.69	2.69	2.76	2.83	0.03	0.18

หมายเหตุ : [1/] วิเคราะห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์แต่ละระดับ ด้วยวิธี orthogonal contrasts พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) จึงไม่แสดงข้อมูล

[2/] T1: สูตรควบคุม (กากถั่วเหลือง-ข้าวโพด); T2: สูตรอาหารพิวรีนต่ำ (ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 15%); T3: สูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนลง 1.5% (พิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 30%); T4: สูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนต่ำลง 3.0% (พิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 45%).

[3/] Pooled SEM =standard error of the mean.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4.2.2 ผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ ต่อการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในไก่โคราช

จากการศึกษาผลการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในไก่โคราช ที่ได้รับอาหารพิวรีนต่ำที่ระดับ 15 30 และ 45% จากกลุ่มควบคุม ตามลำดับ ในระหว่างช่วงอายุที่ 9 สัปดาห์ (ตารางที่ 4.3) พบว่าการย่อยได้ของสิ่งแห้ง สารอินทรีย์ และการใช้ประโยชน์ได้ของไนโตรเจน มีค่าเพิ่มขึ้นตามระดับพิวรีนในสูตรอาหารที่ลดลง การย่อยได้ของสิ่งแห้ง และสารอินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นตามลำดับการลดระดับพิวรีนในอาหาร อาจเนื่องมาจากในสูตรอาหารมีการปรับเปลี่ยนวัตถุดิบ โดยได้มีการลดกากถั่วเหลืองในสูตรอาหารลง และเพิ่มวัตถุดิบแหล่งพลังงาน อาทิเช่น ข้าวโพด มันเส้น DDGS จากข้าวโพด กลูเทนข้าวโพด และรำละเอียด เป็นต้น โดยภาพรวมพบว่ากลุ่มของวัตถุดิบแหล่งพลังงานนั้นมีการย่อยได้ และการมีคุณค่าทางโภชนะสูง ซึ่งจากสูตรอาหารที่ปรับเปลี่ยนวัตถุดิบจะใช้วัตถุดิบจากข้าวโพดเป็นหลัก เนื่องจากข้าวโพดมีคุณค่าทางโภชนะที่สูงแล้ว ยังมีลักษณะของแป้งอ่อนชนิดอะไมโลแพคติน และเยื่อใยต่ำ จึงทำให้สัตว์สามารถย่อยได้สูง เมื่อเปรียบเทียบกับวัตถุดิบชนิดอื่นๆ (สาโรจน์ ค้าเจริญ และคณะ, 2537) นอกจากนี้วัตถุดิบกากถั่วเหลืองเป็นมีสารยับยั้งการใช้โภชนะอยู่หลายชนิด ที่สำคัญคือสารยับยั้งเอนไซม์ย่อยโปรตีนโดยพบบ่อยคือสารยับยั้งทริปซิน (trypsin inhibitor) เป็นสารยับยั้งการใช้ประโยชน์ได้ ซึ่งมีผลทำให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารลดลง ดังนั้นการลดปริมาณกากถั่วเหลืองลงในสูตรอาหาร และเพิ่มวัตถุดิบแหล่งพลังงานตัวอื่น โดยเฉพาะข้าวโพดเพิ่มขึ้นจึงทำให้ในสูตรอาหารพิวรีนต่ำระดับ 30 และ 45% จากกลุ่มควบคุม ตามลำดับ มีการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในไก่โคราชเพิ่มขึ้น

นอกจากนี้การลดระดับพิวรีนในสูตรอาหาร โดยวิธีการลดระดับโปรตีน และเสริมด้วยกรดอะมิโนสังเคราะห์นั้น ยังสามารถเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของไนโตรเจนด้วย เนื่องจากการเสริมกรดอะมิโนเป็นแนวทางหนึ่งที่เพิ่มความสมดุลของอาหาร เพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการของสัตว์ ซึ่งร่างกายไม่ต้องผ่านกระบวนการย่อยสลายโปรตีน ส่งผลให้เพิ่มการย่อยได้โดยตรง และลดการสูญเสียอาหารออกภายนอก (Cowieson and Ravindran, 2008) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษา Bregendahl et al. (2002) และ Rehman et al. (2017) พบว่าการลดระดับโปรตีนแต่มีความสมดุลของกรดอะมิโนจำเป็นและไม่จำเป็นในอาหารไก่เนื้อ ส่งผลให้มีการกักเก็บไนโตรเจนได้เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

ตารางที่ 4.3 ผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ ต่อการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในไก่โคราช

Items	Low purine diets[1/]				Pooled	P-value	Orthogonal contrasts[3/]		
	T1	T2	T3	T4	SEM[2/]		1	2	3
Digestibility (%)									
Dry matter	73.79[b]	73.53[b]	76.15[a]	76.56[a]	0.29	0.00	0.001	0.000	0.473
Organic matter	78.88[b]	79.00[b]	80.99[a]	81.94[a]	0.28	0.00	0.012	0.000	0.518
Retention (%)									
Nitrogen	62.87[b]	63.26[b]	63.27[b]	70.27[a]	0.76	0.00	0.049	0.019	0.000

หมายเหตุ : [a,b] Means with different superscripts in a row are significantly different (P<0.05).

[1/]T1: สูตรควบคุม (กากถั่วเหลือง-ข้าวโพด); T2: สูตรอาหารพิวรีนต่ำ (ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 15%);
T3: สูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนลง 1.5% (พิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 30%);
T4: สูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนต่ำลง 3.0% (พิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 45%).

[2/] Pooled SEM = Standard error of the mean.

[3/] Orthogonal contrasts: 1= Control vs. treatments, 2 = Low purine (15% vs. 30, 45%), and 3 = Low protein (1.5% vs. 3.0%).

4.2.3 ผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ต่อค่าทางชีวเคมีในเลือดของไก่โคราช

ผลของการลดพิวรีนที่ระดับ 15 30 และ 45% จากกลุ่มควบคุมทั้งในรูปของการคัดเลือกวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีพิวรีนต่ำ เพื่อประกอบสูตรอาหาร (T2 = พิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 15%) และการลดระดับโปรตีนร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ (T3 และ T4 ซึ่งมีพิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 30 และ 45% ตามลำดับ) ต่อกรดยูริกในซีรัม (serum uric acid) และในมูล (excreta uric acid) แสดงไว้ในตารางที่ 4.4 โดยพบว่าไก่โคราชที่ได้รับสูตรอาหารพิวรีนต่ำในช่วง 45 % จากกลุ่มควบคุม มีค่ากรดยูริกในซีรัมที่อายุ 6 และ 9 สัปดาห์ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม (P<0.05) แต่ไม่พบความแตกต่างดังกล่าวที่ช่วงอายุ 9 สัปดาห์ สำหรับการขับออกของกรดยูริกในมูล (วัดผลที่อายุ 9 สัปดาห์) พบว่ามีค่าลดลงในไก่ที่รับอาหารพิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่ 45% (P<0.05) ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับค่ากรดยูริกในซีรั่ม

โดยปกติร่างกายของสัตว์ปีกมีกระบวนการกำจัดไนโตรเจนส่วนเกินออกมาในรูปของกรดยูริก เนื่องจากร่างกายมีการย่อยสลายโปรตีนได้เป็นกรดอะมิโน และหากกรดอะมิโนเกินความต้องการของร่างกายจะถูกกำจัดออกโดยอาศัยปฏิกิริยาดีอะมิเนชัน (deamination) และปลดปล่อย

แอมโมเนียออกมา จากนั้นแอมโมเนียจะถูกเปลี่ยนเป็นยูเรียที่ตับ และส่งต่อมายังกระแสเลือดเพื่อขับออกนอกร่างกายทางปัสสาวะ แต่สำหรับสัตว์ปีกก่อนการกำจัดออกมีการเปลี่ยนแปลงของยูเรียให้อยู่ในรูปของกรดยูริก เพื่อลดความเป็นพิษต่อร่างกาย และขับกรดยูริกออกทางมูล ในสัตว์ปีกค่าปกติของกรดยูริกในเลือดมีค่าระหว่าง 2 ถึง 15 mg/dl อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงของค่าชีวเคมีในเลือดของสัตว์นั้นจะขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์ เพศ และอายุ รวมทั้งอาหารที่สัตว์ได้รับ (Coles, 2007)

ตารางที่ 4.4 ผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ต่อซีรั่มกรดยูริกและในมูลของไก่โคราช

Items[1/]	Low purine diets[2/]				Pooled SEM[3/]	P-value
	T1	T2	T3	T4		
Serum uric acid (mg/dl)						
3 weeks	5.35	6.29	5.95	5.51	0.23	0.47
6 weeks	5.99^{a}	6.19^{a}	5.43^{ab}	4.41^{b}	0.21	0.01
9 weeks	4.91^{a}	4.82^{a}	4.39^{ab}	3.21^{b}	0.21	0.02
12 weeks	3.67	3.84	3.73	3.38	0.15	0.75
Excreta uric acid (mg/g)						
9 weeks	107.65^{a}	106.15^{ab}	100.92^{ab}	86.61^{b}	2.88	0.03

หมายเหตุ :^{a,b} Means with different superscripts in a row are significantly different (P<0.05).

[1/] วิเคราะห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์แต่ละระดับ ด้วยวิธี orthogonal contrast พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) จึงไม่แสดงข้อมูล

[2/] T1: สูตรควบคุม (กากถั่วเหลือง-ข้าวโพด); T2: สูตรอาหารพิวรีนต่ำ (ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 15%); T3: สูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนลง 1.5% (พิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 30%); T4: สูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนต่ำลง 3.0% (พิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 45%).

[3/] Pooled SEM: Standard error of the mean.

การทดลองครั้งนี้จะเห็นได้ว่า การลดระดับพิวรีนที่ 45% สามารถลดปริมาณกรดยูริกในซีรั่ม และในมูลลงได้ เนื่องจากสูตรอาหารดังกล่าวมีการคำนวณสัดส่วนของกรดอะมิโนให้มีความสมดุล และเพียงพอต่อความต้องการของไก่โคราช ส่งผลให้มีกรดอะมิโนส่วนเกินต่อความต้องการของร่างกายลดลง ซึ่งสอดคล้องกับ Namroud et al. (2008) ที่พบการลดลงของกรดยูริกในซีรัมและในมูล (P<0.05) เมื่อลดระดับโปรตีน แต่ยังคงรักษาความสมดุลของกรดอะมิโนในอาหารไก่เนื้อ สอดคล้องกับ Darsi et al. (2012) ที่รายงานว่าการลดระดับโปรตีนจาก 21% เป็น 18% ในอาหารไก่

เนื้อช่วงอายุ 10 ถึง 28 วัน สามารถลดยูริกในซีรัมลงได้ แต่อย่างไรก็ตามทดลองครั้งนี้ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของกรดยูริกในซีรัมในช่วงอายุ 3 และ 12 สัปดาห์ ($P>0.05$) เมื่อพิจารณาจากกลไกการสลายกรดอะมิโน และการขนส่งแอมโมเนียไปยังตับ อาจมีความเป็นไปได้ที่ย่อยกรดอะมิโนได้เป็นแอมโมเนีย ซึ่งแอมโมเนียส่วนที่เกินจะถูกนำกลับมาใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ชีวโมเลกุลที่มีอะมิโนไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบต่าง ๆ และส่วนแอมโมเนียที่มีมากเกินพอก็จะถูกขับออกนอกร่างกายในรูปของสารไม่มีพิษ เช่นกลูตามีน หรืออะลานีน จึงส่งผลให้ไม่พบความแตกต่างของกรดยูริกในซีรั่มในช่วงอายุ 3 และ 12 สัปดาห์ เมื่อได้รับอาหารพิวรีนต่ำ

4.2.4 ผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีน และการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ต่อคุณภาพซาก และคุณภาพเนื้อของไก่โคราช

จากผลการศึกษาสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนเสริมด้วยกรดอะมิโนสังเคราะห์ต่อคุณภาพซากของไก่โคราชช่วงอายุ 9 สัปดาห์ และ 12 สัปดาห์ (ตารางที่ 4.5) โดยการลดพิวรีนในสูตรอาหารลงในระดับ 15 30 และ 45% จากกลุ่มควบคุม พบว่าไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพซากของไก่โคราช ทั้งในส่วนของเปอร์เซ็นต์เครื่องใน กล้ามเนื้อส่วนอก สะโพก น่อง และการสะสมไขมันในช่องท้อง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P>0.05$) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าไก่โคราชช่วงอายุ 12 สัปดาห์ ที่ได้รับสูตรอาหารพิวรีนในระดับที่ 45% มีการสะสมไขมันในช่องท้องเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P<0.05$)

จากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าสามารถลดระดับพิวรีนในสูตรอาหารได้ถึง 45% จากกลุ่มควบคุมโดยไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพซาก ทั้งนี้เนื่องมาอาหารทดลองทุกสูตรได้มีการปรับพลังงาน กรดอะมิโน และโภชนะอื่นๆ ให้มีความสมดุล และเพียงพอต่อความต้องการของไก่โคราชในแต่ละช่วงอายุ ตามคำแนะนำ NRC (1994) และ Maliwan et al. (2016) ซึ่งสอดคล้องกับ Kamran et al. (2008) ที่รายงานการลดระดับโปรตีนในอาหารไก่เนื้อจากระดับ 20% 19% 18% และ 17% ตามลำดับ ช่วงอายุแรกเกิดจนถึง 35 วัน พบว่าระดับโปรตีนในอาหารไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพซาก และ คุณภาพเนื้อ เนื่องจากระดับโปรตีนในสูตรอาหารที่ลดลง มีการเสริมกรดอะมิโนที่จำเป็น เช่น กรดอะมิโนไลซีนและเมทไธโอนีน (Baker et al. 2002)

อย่างไรก็ตามจากกผลการศึกษาครั้งนี้ พบว่าไก่โคราชที่อายุ 12 สัปดาห์ เมื่อได้รับอาหารพิวรีนต่ำที่ระดับ 45% มีการสะสมไขมันช่องท้องเพิ่มขึ้น อาจเนื่องจากในสูตรอาหารนี้มีการลดระดับโปรตีนมากเกินไป ซึ่งเมื่อพิจารณาจากวิถีเมแทบอลิซึมของกรดอะมิโนะเกิดขึ้นที่ตับ โดยส่วนที่เป็นโครงสร้างคาร์บอนของกรดอะมิโน จะถูกสลายได้เป็นพลังงาน โดยอาจถูกนำไปเปลี่ยนไกลโคเจนเป็นกลูโคส เพื่อส่งพลังงานสำรองจากตับไปยังเนื้อเยื่ออื่นๆ ส่วนที่เหลือเป็นไขมันสะสมในร่างกาย (Rosebrough and Steele, 1985; Swennen et al. 2006) สอดคล้องกับ Kassim and Suwanpradit (1996) พบว่าการลดระดับโปรตีนในอาหารจาก 20% เป็น 18% ในช่วงสุดท้ายส่งผลให้ไขมันช่อง

ท้องเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ในการเปรียบเทียบอาหารโปรตีนต่ำและโปรตีนปกติในไก่เนื้อ Collin et al. (2003) พบว่าอาหารโปรตีนต่ำทำให้มีการสะสมไขมันในช่องท้องช่องท้องเพิ่มขึ้น Yalçin et al. (2010) นอกจากนี้ยังพบว่าการให้อาหารไก่เนื้อไก่ที่มีโปรตีน 19.2% 16.6% และ 15.5% (อาหารโปรตีนต่ำ) นำไปสู่การสะสมไขมันรวมเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับไก่ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีโปรตีน 22.9% 19.9% และ 18.2% ตามลำดับ

ผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนและเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ต่อคุณภาพเนื้อของไก่โคราช ช่วงอายุ 9 และ 12 สัปดาห์ แสดงไว้ในตารางที่ 4.6 โดยพบว่า ค่า pH ที่ 45 นาที และ 24 ชั่วโมง หลังการฆ่า การสูญเสียน้ำของเนื้อระหว่างการเก็บ การสูญเสียน้ำหลังการทำให้สุก และค่าแรงเฉือนของเนื้อ ไม่แตกต่างกันในทุกกลุ่มการทดลอง (P>0.05) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการลดระดับพิวรีนในสูตรอาหารทั้งโดยวิธีการคัดเลือกวัตถุดิบอาหารที่มีพิวรีนต่ำและการลดระดับโปรตีนในอาหารร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพเนื้อในพารามิเตอร์ที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น สอดคล้องกับการทดลองของ Shi et al. (2009) และ Shao et al. (2018) ทำการศึกษาผลของการลดระดับโปรตีนจาก 19% เป็น 17% ร่วมกับการเสริมร่วมกรดอะมิโนสังเคราะห์ในอาหารไก่เนื้อ พบว่าอาหารโปรตีนต่ำที่มีสมดุลกรดอะมิโนนั้น ไม่มีผลกระทบต่อค่า pH ของเนื้อ สีเนื้อ ความสามารถในการอุ้มน้ำ และค่าแรงเฉือนในเนื้อไก่ และสอดคล้องกับการทดลองของ Gherisari et al. (2015) ศึกษาการลดระดับโปรตีน 2% ในอาหารไก่เนื้อ 3 ระดับ คืออาหารโปรตีนสูง ปานกลาง และต่ำ ซึ่งพบว่าการลดระดับโปรตีนในอาหารส่งผลทำให้ให้ค่า pH และความสามารถในการอุ้มน้ำลดลง ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย แต่ไม่ส่งผลกระทบต่อการสูญเสียน้ำของเนื้อระหว่างการเก็บ และค่าแรงเฉือนในเนื้อ อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองครั้งนี้ พบว่าเนื้อส่วนอกของไก่โคราชทั้งสองช่วงอายุ มีสีค่าความแดงติดลบ (a*) ซึ่งจากการรายงานของ Janisch et al. (2011) พบว่าเนื้อไก่มีค่าสีแดงลดลงเป็นผลมาจากการลดลงของปริมาณเม็ดสีฮีม (heme) นอกจากนี้ Boulianne and King (1995) และ Clark et al. (1997) รายงานว่ากล้ามเนื้ออกไก่เนื้อที่มีค่า (a*) ต่ำจะมีเม็ดสีรวมไมโอโกลบิน (myoglobin) และความเข้มข้นของธาตุเหล็กที่ต่ำกว่าสะโพก

ผลการศึกษาปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า ในเนื้ออกและสะโพก ช่วงอายุ 9 และ 12 สัปดาห์ แสดงไว้ในตารางที่ 4.7 จากผลการทดลองพบว่า ไก่โคราชที่ได้รับสูตรอาหารพิวรีนต่ำในช่วง 15-45% จากกลุ่มควบคุม ไม่แตกต่างกันในทุกกลุ่มการทดลอง (P>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยปริมาณโปรตีนในกล้ามเนื้ออกมีแนวโน้มว่ามีปริมาณสูงกว่าเนื้อสะโพก และสำหรับปริมาณไขมันทั้งหมดของเนื้อสัตว์ ส่วนใหญ่เป็นไขมันในรูปไตรกลีเซอไรด์ (triglycerides) ฟอสโฟลิพิด (phospholipid) และไกลโคลิพิด (glycolipid) ตามลำดับ Enser et al. (1999) ซึ่งพบว่าปริมาณไขมันทั้งหมดของเนื้ออกมีค่าต่ำกว่าเนื้อสะโพกของทั้งสองช่วงอายุ สอดคล้องกับผลการ

ทดลองของ Gherisari et al. (2015) พบว่าการลดระดับโปรตีนต่ำลง 2% ในอาหารไก่เนื้อไม่ส่งผลกระทบต่อ ความชื้น และไขมัน แต่อย่างไรก็ตามพบว่าปริมาณโปรตีนในเนื้อไก่สูง มีความแตกต่างกันเมื่อได้รับอาหารโปรตีนต่ำ เปรียบเทียบกับอาหารทุกกลุ่ม ($P<0.05$) ดังนั้นจากการผลทดลองครั้งนี้พบว่าสามารถลดระดับพิวรีนในสูตรอาหารลงถึง 45% โดยไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพเนื้อ (ตารางที่ 4.6 ดังที่กล่าวมาก่อนหน้านี้ ทั้งนี้เนื่องมาอาหารทุกสูตรได้มีการปรับพลังงาน โปรตีน สมดุลของกรดอะมิโน และโภชนะอื่นๆ ให้เพียงพอต่อความต้องการของไก่โคราชในแต่ละช่วงอายุ จึงทำให้ไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพเนื้อไก่โคราช

4.2.5 ผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีน และเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ต่อการสะสมพิวรีน และอิโนซีนมอนอฟอสเฟส (IMP) ในเนื้อส่วนอก และเนื้อสะโพกของไก่โคราช

ผลการศึกษาสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนเสริมด้วยกรดอะมิโนสังเคราะห์ต่อปริมาณการสะสมพิวรีน อนุพันธ์พิวรีนและกรดยูริกในเนื้ออก และสะโพกของไก่โคราชช่วงอายุ 9 สัปดาห์ และ 12 สัปดาห์ แสดงในตารางที่ 4.8 และตารางที่ 4.9 ตามลำดับ การลดปริมาณพิวรีนในสูตรอาหารที่ระดับ 15 30 และ 45% จากกลุ่มควบคุม ทั้งในรูปแบบของการคัดเลือกวัตถุดิบอาหารสัตว์เพื่อประกอบสูตรอาหารที่มีพิวรีนต่ำ (T2) ร่วมกับการลดระดับโปรตีนในสูตรอาหารและเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ (T3 และ T4) พบว่าไม่มีผลในการเปลี่ยนแปลงปริมาณการสะสมพิวรีนและกรดยูริกในเนื้อส่วนอก และเนื้อสะโพกของไก่โคราชทั้งสองช่วงอายุ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P>0.05$)

ผลการทดลองครั้งนี้ไม่เป็นไปตามสมมุติฐาน อาจเนื่องมาจากพิวรีนเป็นสารที่ร่างกายสามารถสังเคราะห์ขึ้นเองได้ถึง 80% จากความต้องการทั้งหมด ถึงแม้ว่าในสูตรอาหารทดลองได้ทำการลดระดับพิวรีนลงถึง 45% แต่อย่างไรก็ตามร่างกายมีกลไกการรักษาสมดุลของนิวคลี-โอไทด์ให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม ซึ่งอาศัยกลไกการสังเคราะห์และการสลายพิวรีน ซึ่งวิถีการสังเคราะห์พิวรีน มาจาก 2 กระบวนการ คือ วิถีการสร้างใหม่ โดยจะใช้สารตั้งต้นเป็นกรดอะมิโน น้ำตาลไรโบส CO_2 และแอมโมเนีย (NH_3) ได้ผลผลิตเป็น IMP GMP และ AMP และวิถีการนำกลับมาใช้ซ้ำจะใช้สารตั้งต้นเป็นเบสอิสระและนิวคลีโอไซด์ ที่ได้จากการสลายกรดนิวคลีอิก ซึ่งได้ผลผลิตเป็นไฮโปแซนทีนและกวานีน นอกจากนี้วิถีการสลายพิวรีนจะใช้ผลผลิตที่ได้จากการสร้างพิวรีนมาใช้เป็นสารตั้งต้นจนได้กรดยูริกเป็นผลผลิตสุดท้าย ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่การลดระดับพิวรีนในอาหารไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงพิวรีนในเนื้อ เนื่องจากอาจเป็นเพราะหากในตัวสัตว์มีการได้รับสารตั้งต้นการสังเคราะห์พิวรีนที่ไม่เพียงพอ ร่างกายอาจมีการปรับเปลี่ยนกลไกภายในร่างกาย โดยอาจดึงสารพิวรีนจากร่างกายออกมาใช้ทดแทน เพื่อให้เกิดการสังเคราะห์พิวรีนเป็น

ตารางที่ 4.5 ผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีน และเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ต่อคุณภาพซากของไก่โคราช

Items[1/]	Low purine diets[2/]				Pooled SEM[3/]	P-value
	T1	T2	T3	T4		
Average BW 1.2 Kg – aged 9 weeks						
	% of Live weight					
Dressing	64.76	64.72	64.30	64.14	0.24	0.75
Giblets	5.05	5.05	5.02	5.03	0.08	1.00
	% of Carcass weight					
Breast	16.70	16.64	16.68	16.50	0.20	0.99
Thigh	16.85	16.87	16.80	16.78	0.17	1.00
Drumstick	15.84	15.85	15.84	15.82	0.13	1.00
Abdominal fat	0.54	0.57	0.56	0.59	0.05	0.99
Average BW 1.7 Kg – aged 12 weeks						
	% of Live weight					
Dressing	68.22	68.05	68.04	68.01	0.23	0.99
Giblets	4.09	4.04	4.03	4.05	0.06	0.99
	% of carcass weight					
Breast	17.30	17.27	17.20	17.11	0.19	0.99
Thigh	17.48	17.44	17.32	17.25	0.14	0.94
Drumstick	15.83	15.81	15.66	15.68	0.13	0.96
Abdominal fat	0.63 [a]	0.77 [a]	1.22 [ab]	1.53 [b]	0.10	0.00

หมายเหตุ :[a,b,] Means with different superscripts in a row are significantly different (P<0.05)

[1/] วิเคราะห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์แต่ละระดับ ด้วยวิธี orthogonal contrast พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) จึงไม่แสดงข้อมูล

[2/] T1: สูตรควบคุม (กากถั่วเหลือง-ข้าวโพด); T2: สูตรอาหารพิวรีนต่ำ (ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 15%); T3: สูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนลง 1.5% (พิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 30%); T4: สูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนต่ำลง 3.0% (พิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 45%)

[3/] Pooled SEM: Standard error of the mean.

ตารางที่ 4.6 ผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีน และเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ต่อคุณภาพเนื้อของไก่โคราช

Items[1/]	Low purine diets[2/]				Pooled SEM[3/]	P-value
	T1	T2	T3	T4		
Average BW 1.2 Kg – aged 9 weeks						
Breast meat						
pH 45 minutes	5.92	5.92	5.92	5.91	0.02	1.00
pH 24 hours	5.67	5.65	5.66	5.65	0.01	0.98
Drip loss (%)	7.86	7.98	7.69	7.67	0.20	0.95
Cooking loss (%)	23.26	23.14	23.13	23.35	0.41	1.00
Shear force (kg)	2.04	2.00	1.94	1.93	0.04	0.80
Colors of the breast						
L*	45.91	45.55	45.16	45.29	0.27	0.80
a*	-0.93	-0.59	-0.52	-0.45	0.09	0.34
b*	8.13	8.05	8.06	8.04	0.16	1.00
Average BW 1.7 Kg – aged 12 weeks						
Breast meat						
pH 45 minutes	5.62	5.62	5.62	5.60	0.02	1.00
pH 24 hours	5.55	5.51	5.57	5.55	0.01	0.13
Drip loss (%)	8.00	8.08	8.02	7.99	0.11	0.99
Cooking loss (%)	21.89	21.53	21.70	21.60	0.32	0.98
Shear force (kg)	2.19	2.22	2.18	1.96	0.09	0.77
Colors of the breast						
L*	54.21	52.93	52.27	52.74	0.40	0.37
a*	-1.67	-1.16	-1.18	-1.10	0.09	0.14
b*	8.16	8.04	8.28	8.45	0.19	0.90

หมายเหตุ: [1/] วิเคราะห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์แต่ละระดับ ด้วยวิธี orthogonal contrasts พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) จึงไม่แสดงข้อมูล

[2/] T1: สูตรควบคุม (ข้าวโพด-กากถั่วเหลือง); T2: สูตรอาหารพิวรีนต่ำ (ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 15%); T3: สูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนลง 1.5% (พิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 30%); T4: สูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนต่ำลง 3.0% (พิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 45%).

[3/] Pooled SEM: Standard error of the mean.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.7 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้ออก และสะโพกไก่โคราช ช่วงอายุ 9 และ 12 สัปดาห์ (% of g fresh meat)

Items[1/]	Low purine diets[2/]				Pooled SEM[3/]	P-value
	T1	T2	T3	T4		
Average BW 1.2 Kg – aged 9 weeks						
Breast meat						
Moisture	72.34	72.32	72.18	71.99	0.06	0.15
Crude Protein	26.45	26.22	26.18	26.26	0.11	0.83
Crude Fat	0.88	0.80	0.85	0.75	0.07	0.93
Ash	1.56	1.57	1.53	1.50	0.01	0.06
Thigh meat						
Moisture	74.93	74.75	74.71	74.56	0.11	0.73
Crude Protein	22.72	22.82	22.75	22.71	0.06	0.91
Crude Fat	5.84	5.47	6.02	6.11	0.18	0.63
Ash	1.31	1.30	1.29	1.32	0.01	0.33
Average BW 1.7 Kg – aged 12 weeks						
Breast meat						
Moisture	72.66	72.62	72.46	72.23	0.06	0.05
Crude Protein	26.25	26.12	26.00	26.03	0.07	0.58
Crude Fat	0.76	0.71	0.75	0.76	0.03	0.95
Ash	1.50	1.59	1.50	1.57	0.02	0.09
Thigh meat						
Moisture	74.60	74.52	74.75	74.44	0.08	0.58
Crude Protein	22.79	22.62	22.43	22.46	0.07	0.25
Crude Fat	5.53	5.38	6.20	6.39	0.01	0.06
Ash	1.32	1.33	1.29	1.30	0.01	0.07

หมายเหตุ: [1/] วิเคราะห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์แต่ละระดับ ด้วยวิธี orthogonal contrasts พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) จึงไม่แสดงข้อมูล

[2/] T1: สูตรควบคุม (ข้าวโพด-กากถั่วเหลือง); T2: สูตรอาหารพิวรีนต่ำ (ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 15%)
T3: สูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนลง 1.5% (พิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 30%)
T4: สูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนต่ำลง 3.0% (พิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 45%)

[3/] Pooled SEM: Standard error of the mean.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ไปอย่างปกติ ในกรณีที่มีสารพิวรีนจากแหล่งอาหารไม่เพียงพอ เพื่อให้ผลสุดท้ายร่างกายมีการสังเคราะห์พิวรีนกลับเข้าสู่สมดุลปกติในร่างกาย ดังนั้นนี้อาจเป็นเหตุผลที่น่าจะเป็นไปของการลดระดับพิวรีนถึง 45% ในสูตรอาหารทำให้พิวรีนในเนื้อของทั้ง 2 ช่วงอายุ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของพิวรีน อีกทั้งการเปลี่ยนแปลงการสะสมพิวรีนมีหลายปัจจัยที่เกี่ยข้อง เช่น อายุ น้ำหนักตัว และเพศ เป็นต้น

นอกจากนี้การลดระดับพิวรีนในสูตรอาหาร ด้วยวิธีลดระดับโปรตีนร่วมกับการเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์นั้น เมื่อพิจารณาจากกลไกการสลายกรดอะมิโนในตับ เกิดโดยกำจัดหมู่แอลฟาอะมิโนออก เพื่อนำไปสังเคราะห์นิวคลีโอไทด์ หรือเนื้อเยื่ออื่นๆ ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ และอาจถูกขับออกจากร่างกายในรูปยูเรีย ส่วนโครงสร้างคาร์บอนที่ได้จากการสลายกรดอะมิโน ซึ่งอยู่ในรูปของกรดแอลฟาคีโท จะถูกเปลี่ยนแปลงในวัฏจักรซิทริก ได้ผลิตภัณฑ์เป็น CO_2 น้ำ และพลังงาน (ATP) และอาจนำไปสร้างกลูโคส (Stevens et al. 1996) ซึ่งผลผลิตสุดท้ายของกระบวนการสสลายกรดอะมิโน ส่วนที่มีไนโตรเจนองค์ประกอบที่ไม่ได้ใช้ในการสังเคราะห์โปรตีน จะถูกเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียในเลือด ก่อนมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นยูเรีย ซึ่งในระหว่างนี้มีการดึงแอมโมเนียนำกลับมาเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์พิวรีน เช่น กลูตาเมต กลูตามีน และแอสพาเตท ซึ่งกรดอะมิโนดังกล่าวสามารถเปลี่ยนแปลงไปมาระหว่างกันได้ ซึ่งกรดอะมิโนเหล่านี้ เช่น กลูตาเมต เปลี่ยนเป็นแอสพาเตทในปฏิกิริยาทรานส์อะมิเนชัน เพื่อให้ไนโตรเจนในการสังเคราะห์ยูเรีย ส่วนไพรูเวตถูกนำไปสังเคราะห์เป็นกลูโคสที่ตับ ซึ่งผลลัพธ์การสังเคราะห์กลูโคสนั้น สามารถนำกลับมาเป็นเป็นสารตั้งต้นของ ไรโบส 5 ฟอสเฟต ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของ PRPP ในการสังเคราะห์พิวรีน จึงอาจเป็นสาเหตุที่ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ถึงแม้ว่าการสะสมพิวรีนในเนื้อไก่โคราชไม่แตกต่างกันในทุกกลุ่มการทดลองก็ตาม แต่การลดระดับพิวรีนในสูตรอาหาร 45% สามารถลดการสะสมพิวรีนในเนื้ออกและเนื้อสะโพกได้ 10.29 และ 9.94% ที่อายุ 9 สัปดาห์ และ 5.78 และ 3.43% ที่อายุ 12 สัปดาห์ ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองในครั้งนี้ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงปริมาณพิวรีนมีแนวโน้มลดลงในเนื้อสะโพกคือ อะดีนีน และไฮโปแซนทีน ($P=0.08$ และ $P=0.15$) ตามลำดับ และในเนื้ออกมีแนวโน้มลดลงของกวานีน และแซนทีน ($P=0.09$ และ $P=0.26$) ตามลำดับ ของไก่โคราชทั้งสองช่วงอายุ ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ อาจเป็นเพราะเกี่ยวเนื่องกับอิทธิพลของพันธุกรรม หรือเพศของไก่ด้วย ทำให้มีผลต่อค่าความคลาดเคลื่อนจึงอาจเป็นเหตุผลทำให้ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อพิจารณาจากสัดส่วนของไฮโปแซนทีนต่อปริมาณของพิวรีนทั้งหมดในเนื้ออกและเนื้อสะโพกของไก่โคราชอายุ 9 สัปดาห์ (น้ำหนักตัวเฉลี่ย 1.2 กิโลกรัม) มีค่า 64.41 64.57 65.61 และ 64.09% ตามลำดับ และเนื้อสะโพก มีค่าเท่ากับ 53.94 53.89 54.27 และ 54.48% ตามลำดับ ส่วน

ที่อายุ 12 สัปดาห์ (น้ำหนักตัวเฉลี่ย 1.7 กิโลกรัม) เนื้ออก มีค่าเท่ากับ 60.49 60.88 61.71 และ 62.82% ตามลำดับ และเนื้อสะโพก มีค่าเท่ากับ 57.32 57.67 57.77 และ 57.79% ตามลำดับ โดยมีการรายงานสัดส่วนของไฮโปแซนทีนต่อพิวรีนเนื้ออก และสะโพกในไก่เนื้อ (น้ำหนัก 1.55 กิโลกรัม อายุ 5 สัปดาห์) มีค่าเท่ากับ 63.53 และ 59.18% ตามลำดับ และไก่พื้นเมืองประดู่หางดำ (น้ำหนัก 1.51 กิโลกรัม อายุ 16 สัปดาห์) มีค่าเท่ากับ 62.76 และ 56.48% ตามลำดับ (Kiratikrankul and Yongsawatdigul, 2016) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบฐานน้ำหนัก 1.5 กิโลกรัม เหมือนกันพบว่าไก่โคราชที่อายุ 9 สัปดาห์ มีน้ำหนักน้อยกว่าไก่เนื้อหรือไก่ประดู่ ซึ่งพบว่ามีสัดส่วนไฮโปแซนทีนต่อปริมาณพิวรีนทั้งหมดในเนื้ออก มีค่าค่อนข้างใกล้เคียงกัน แต่เนื้อสะโพกมีค่าที่ต่ำกว่า ส่วนไก่โคราช อายุ 12 สัปดาห์ พบว่าเนื้ออก และเนื้อสะโพกมีค่าใกล้เคียงกันของสัดส่วนไฮโปแซนทีนต่อปริมาณพิวรีนทั้งหมด เมื่อเปรียบเทียบกับไก่เนื้อ และไก่ประดู่ใกล้เคียงกัน นอกจากนี้พบว่าปริมาณของกรดยูริกมีแนวโน้มลดลงในเนื้ออก และเนื้อสะโพกของไก่โคราชทั้งสองช่วงอายุ โดยช่วงอายุ 9 สัปดาห์ พบว่ามีกรดยูริกในเนื้ออกเท่ากับ 17.65% และเนื้อสะโพกเท่ากับ 10.34% ตามลำดับ และช่วงอายุ 12 สัปดาห์ กรดยูริกในเนื้ออก เท่ากับ 14.08% และเนื้อสะโพก 5.73% ตามลำดับ

นอกจากนี้ผลการทดลองครั้งนี้ ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ (correlation) ของปริมาณพิวรีนในเนื้อ และซีรั่มกรดยูริก เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการศึกษาเชิงลึกต่อไป จากตารางที่ 4.10 และ 4.11 พบว่าค่าความสัมพันธ์ของปริมาณพิวรีน อนุพันธ์พิวรีนกับกรดยูริกในซีรั่ม ในเนื้ออกและเนื้อสะโพกของอายุ 9 สัปดาห์ พบว่ามีแนวโน้มความสัมพันธ์ในทางบวก (positive correlation) อาจกล่าวคือ หากมีปริมาณพิวรีนในเนื้อสูง กรดยูริกในซีรัมก็จะสูงไปด้วย ($P>0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าค่าความสัมพันธ์ของปริมาณพิวรีน อนุพันธ์พิวรีนกับกรดยูริกในซีรั่ม ในเนื้ออกและเนื้อสะโพกของอายุ 12 สัปดาห์ พบว่ามีแนวโน้มความสัมพันธ์ไปในทางลบ (negative correlation) กล่าวคือ ถ้าหากมีปริมาณพิวรีนในเนื้อสูง กรดยูริกในซีรัมก็จะต่ำไปด้วย ซึ่งจากผลดังกล่าวไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.12 และ 4.13

เหตุผลที่เป็นเช่นนี้ อาจเป็นเพราะร่างกายสามารถกำจัดกรดยูริกได้ ซึ่งมีการขับออกของกรดยูริก 2 ทางคือ การขนส่งผ่านทางหลอดเลือด เข้าสู่ไตและขับออกทางปัสาวะ ประมาณ 60-70% และอีกทางกรดยูริกส่วนที่เหลือจะถูกขับออกผ่านระบบลำไส้ นอกจากนี้น่าเกี่ยวข้องกับอิทธิพลของเพศร่วมด้วย ดังนั้นจึงอาจเป็นเหตุผลไม่พบความแตกต่างของพิวรีนในเนื้อ และซีรั่มกรดยูริก (AACC,2012; Keneko et al. 2014)

ผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำ ต่อปริมาณอิโนซีนมอนอฟอสเฟส (IMP) ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.14 IMP เป็นสารที่บ่งชี้ถึงความอร่อยของเนื้อ โดยพบว่าไก่โคราชที่ได้รับอาหารที่มีระดับพิวรีนต่ำตั้งแต่ระดับ 15-45% จากกลุ่มควบคุม ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า IMP ในเนื้ออก และเนื้อสะโพกทั้ง 2 ช่วงอายุ (9 และ 12 สัปดาห์) ทั้งนี้อาจเนื่องจากในกระบวนการสังเคราะห์พิวรีน มี

การควบคุมแบบย้อนกลับ เรียกว่า feedback inhibition เพื่อควบคุมการทำงานของพิวรีนนิวคลีโอไทด์ให้อยู่ในปริมาณที่เหมาะสม ซึ่งเกิดขึ้นหลายจุดในวิถีการสังเคราะห์พิวรีน เช่น เริ่มตั้งแต่การสร้าง PRPP จะมี ADP และ GDP ทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของ PRPP synthetase ขั้นต่อมา คือ PRPP glutamyl amidotransferase สามารถถูกกระตุ้นได้โดย PRPP แต่ถูกยับยั้งได้โดย AMP, GMP และ IMP และนอกจากนั้นในจุดแยกของปฏิกิริยาการสังเคราะห์จาก IMP ก็จะมี AMP และ GMP เป็นตัวควบคุม ทั้งนี้เพื่อรักษาระดับพิวรีนไรโบนิคลีโอไทด์ทั้งสองชนิดให้สมดุล และมีเพียงพอต่อการนำใช้ต่อไป

เมื่อดูจากกลไกของการเกิดไฮโปแซนทีน พบว่าเกิดจากทั้งการเปลี่ยน IMP เป็นอิโนซีนโดยเอนไซม์ 5’ nucleotidase จากนั้นอิโนซีนจะถูกเอนไซม์ PNP เร่งปฏิกิริยาเพื่อให้เปลี่ยนเป็นไฮโปแซนทีนหรืออาจเกิดจากการเปลี่ยน IMP ให้เป็น AMP แล้วถูกเปลี่ยนต่อไปเป็นอิโนซีน หรือเกิดจากกระบวนการเปลี่ยนอะดีนีน ไปเป็นไฮโปแซนทีนโดยเอนไซม์ ADP จากการรวบรวมข้อมูลจะเห็นได้ว่า IMP นั้นเป็นสารตัวกลางสำคัญสำหรับการเปลี่ยนไปเป็นสารอนุพันธ์พิวรีนต่างๆ ซึ่ง IMP เป็นสารที่เกี่ยวข้องกับรสชาติของเนื้อซึ่งสัมพันธ์กับการสร้างความอร่อยหรือเรียกว่าอูมามิ (umami) ในเนื้อไก่โมโนโซเดียมกลูตาเมต หรือกรดอะมิโนอิสระ เช่น กลูตามิก และกรดแอสปาร์ติก (Kawai et al. 2002; Rikimaru and Takahashi, 2010) จากการรวบรวมเอกสารงานวิจัยผลของ Zhang et al. (2008) การเสริมอิโนซีน (IMP) และการใช้สารเสริมอาหาร (feed additives) ลงในอาหารไก่เนื้อ พบว่าการเสริม IMP มีผลทำให้เกิดการสะสม IMP ในเนื้ออก และเนื้อสะโพกของไก่เนื้อเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) Wang et al. (2014) ศึกษาผลของการเสริมสารนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกันในอาหารไก่เนื้อ พบว่านิวคลีโอไดท์ไม่มีผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต ลักษณะซาก และคุณภาพของเนื้อไก่ แต่สารดังกล่าวสามารถเพิ่มระดับอูมามิทำให้เนื้อไก่มีรสชาติที่อร่อยมากขึ้น จากการผลทดลองนี้ถึงแม้ว่าการลดระดับพิวรีนในสูตรอาหารลงถึง 45% ไม่สามารถลดการสะสมพิวรีนในเนื้อไก่ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามสมมติฐานที่คาดไว้ แต่อย่างไรก็ตามการลดระดับพิวรีนที่ 45% ไม่มีมีผลกระทบต่อปริมาณ IMP ในเนื้ออก และสะโพกของไก่โคราชทั้งสองช่วงอายุ

ตารางที่ 4.8 ผลของการใช้สูตรอาหารพิวรีนต่ำต่อปริมาณการสะสมพิวรีนในเนื้ออกของไก่โคราชช่วงอายุ 9 และ 12 สัปดาห์

Items[1/]	Purine (mg/100g)	Low purine diets[2/]				Pooled SEM[3/]	P-value
		T1	T2	T3	T4		
Average BW 1.2 Kg – aged 9 weeks							
Breast meat	Adenine	28.56	29.64	29.23	29.81	0.68	0.47
	Guanine + Xanthine	39.69	38.32	31.83	31.96	1.45	0.09
	Hypoxanthine	123.5	123.88	116.48	110.25	2.90	0.79
	Total purine[4/]	191.75	191.84	177.53	172.01	4.76	0.29
	Uric acid[5/]	205.47	198.24	177.41	169.21	4.80	0.55
	Hypoxanthine /Total purine[6/] (%)	64.41	64.57	65.61	64.09	0.01	0.27
Average BW 1.7 Kg – aged 12 weeks							
Breast meat	Adenine	28.86	28.9	28.33	29.07	0.42	0.95
	Guanine + Xanthine	35.72	35.23	32.09	28.2	1.43	0.26
	Hypoxanthine	98.88	99.81	97.36	96.75	1.26	0.85
	Total purine[4/]	163.47	163.94	157.78	154.02	3.06	0.20
	Uric acid[5/]	212.97	209.14	192.39	182.98	3.48	0.20
	Hypoxanthine /Total purine[6/] (%)	60.49	60.88	61.71	62.82	0.01	0.40

หมายเหตุ : [1/] วิเคราะห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์แต่ละระดับ และวิเคราะห์ความแตกต่างของของการสะสมพิวรีนระหว่างอายุ 9 และ 12 สัปดาห์ ด้วยวิธี orthogonal contrasts พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงไม่แสดงข้อมูล (P>0.05). [2/] T1: สูตรควบคุม (กากถั่วเหลือง-ข้าวโพด); T2: สูตรอาหารพิวรีนต่ำ (ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 15%); T3: สูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนลง 1.5% (พิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 30%); T4: สูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนต่ำลง 3.0% (พิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 45%). [3/] Pooled SEM: standard error of the mean. [4/]The total purine calculated from the combined amounts of adenine, guanine, hypoxanthine, and xanthine. [5/]The calculated uric acid is the amount of uric acid produced in the purine metabolic pathway in the body, calculated as uric acid (mg/100 g) = (MW. uric acid (168.1 g/mol) × total purines (μmol/100 g)) /1,000; [6/] The calculated amount as ratio of hypoxanthine on total purine (hypoxanthine / total purine) × 100.

ตารางที่ 4.9 ผลของการใช้สูตรอาหารพิวรีนต่ำ ต่อปริมาณการสะสมพิวรีนในเนื้อสะโพกของไก่โคราช ช่วงอายุ 9 และ 12 สัปดาห์

Items[1/]	Purine (mg/100g)	Low purine diets[2/]				Pooled	P-
		T1	T2	T3	T4	SEM[3/]	value
Average BW 1.2 Kg – aged 9 weeks							
	Adenine	39.71	39.38	38.1	35.91	0.74	0.27
	Guanine + Xanthine	54.88	51.84	50.89	48.27	1.39	0.45
	Hypoxanthine	110.76	106.59	105.61	100.76	1.56	0.15
Thigh meat	Total purine[4/]	205.35	197.8	194.6	184.94	3.77	0.17
	Uric acid[5/]	247.21	239.94	234.62	221.64	4.57	0.16
	Hypoxanthine /Total purine[6/](%)	53.94	53.89	54.27	54.48	0.01	0.24
Average BW 1.7 Kg – aged 12 weeks							
	Adenine	36.39	35.59	35.3	34.54	0.72	0.08
	Guanine + Xanthine	33.59	32.40	32.12	32.29	0.51	0.43
	Hypoxanthine	93.98	92.61	92.25	91.50	1.02	0.54
Thigh meat	Total purine[4/]	163.95	160.60	159.67	158.32	2.43	0.66
	Uric acid[5/]	187.19	181.63	178.22	176.47	2.59	0.56
	Hypoxanthine /Total purine[6/](%)	57.32	57.67	57.77	57.79	0.00	0.24

หมายเหตุ : [1/] วิเคราะห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์แต่ละระดับ และวิเคราะห์ความแตกต่างของของการสะสมพิวรีนระหว่างอายุ 9 และ 12 สัปดาห์ ด้วยวิธี orthogonal contrasts พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงไม่แสดงข้อมูล (P>0.05). [2/] T1: สูตรควบคุม (กากถั่วเหลือง-ข้าวโพด); T2: สูตรอาหารพิวรีนต่ำ (ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 15%); T3: สูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนลง 1.5% (พิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 30%); T4: สูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนต่ำลง 3.0% (พิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 45%). [3/] Pooled SEM: standard error of the mean. [4/]The total purine calculated from the combined amounts of adenine, guanine, hypoxanthine, and xanthine. [5/]The calculated uric acid is the amount of uric acid produced in the purine metabolic pathway in the body, calculated as uric acid (mg/100 g) = (MW. uric acid (168.1 g/mol) × total purines (μmol/100 g)) /1,000; [6/] The calculated amount as ratio of hypoxanthine on total purine (hypoxanthine / total purine) × 100.

ตารางที่ 4.10 ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกรดยูริกในซีรั่ม และพิวรีนและอนุพันธ์ของพิวรีนในเนื้ออกไก่โคราช ที่อายุ 9 สัปดาห์

Items	Adenine	Hypoxanthine	Uric acid in meat	Total purine[1/]
Serum uric acid	-0.102	0.206	0.326	0.350
	(0.708)[2/]	(0.427)	(0.173)	(0.264)
Adenine		0.154	0.323	0.290
		(0.632)	(0.259)	(0.361)
Hypoxanthine			**0.974****	**0.955****
			(0.000)	(0.000)
Uric acid in meat				**0.985****
				(0.000)

หมายเหตุ: [1/] The total purine calculated from the combined amounts of adenine, guanine, hypoxanthine, and xanthine.

[2/] Upper row = phenotypic correlations, bold values indicate significant correlations. P-values for the difference from zero in parentheses.

* Correlation is significant at P<0.05; ** Correlation is significant at P<0.01.

ตารางที่ 4.11 ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกรดยูริกในซีรั่ม และพิวรีนและอนุพันธ์ของพิวรีนในเนื้อสะโพกไก่โคราช ที่อายุ 9 สัปดาห์

Items	Adenine	Hypoxanthine	Uric acid in meat	Total purine[1/]
Serum uric acid	0.402	**0.582***	0.483	0.500
	(0.122)[2/]	(0.018)	(0.058)	(0.141)
Adenine		0.910	**0.918****	**0.922****
		(0.000)	(0.000)	(0.000)
Hypoxanthine			**0.915****	**0.927****
			(0.000)	(0.000)
Uric acid in meat				**1.000****
				(0.000)

หมายเหตุ: [1/] The total purine calculated from the combined amounts of adenine, guanine, hypoxanthine, and xanthine.

[2/] Upper row = phenotypic correlations, bold values indicate significant correlations. P-values for the difference from zero in parentheses.

* Correlation is significant at P<0.05; ** Correlation is significant at P<0.01.

ตารางที่ 4.12 ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกรดยูริกในซีรั่ม และพิวรีนและอนุพันธ์ของพิวรีนในเนื้ออกไก่โคราช ที่อายุ 12 สัปดาห์

Items	Adenine	Hypoxanthine	Uric acid in meat	Total purine[1/]
Serum uric acid	-0.299	-0.013	0.467	0.062
	(0.214)[2/]	(0.962)	(0.079)	(0.814)
Adenine		0.066	0.270	0.597
		(0.822)	(0.397)	(0.024)
Hypoxanthine			**0.641**[*]	**0.609**[*]
			(0.034)	(0.027)
Uric acid in meat				**0.999**[**]
				(0.000)

หมายเหตุ: [1/] The total purine calculated from the combined amounts of adenine, guanine, hypoxanthine, and xanthine.

[2/] Upper row = phenotypic correlations, bold values indicate significant correlations. P-values for the difference from zero in parentheses.

* Correlation is significant at P<0.05; ** Correlation is significant at P<0.01.

ตารางที่ 4.13 ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกรดยูริกในซีรั่ม และพิวรีนและอนุพันธ์ของพิวรีนในเนื้อสะโพกไก่โคราช ที่อายุ 12 สัปดาห์

Items	Adenine	Hypoxanthine	Uric acid in meat	Total purine[1/]
Serum uric acid	-0.347	**0.004**[*]	-0.457	-0.299
	(0.146)[2/]	(0.987)	(0.216)	(0.345)
Adenine		0.413	0.211	**0.864**[**]
		(0.161)	(0.616)	(0.000)
Hypoxanthine			-0.025	**0.767**[**]
			(0.958)	(0.004)
Uric acid in meat				**0.002**
				(0.997)

หมายเหตุ: [1/] The total purine calculated from the combined amounts of adenine, guanine, hypoxanthine, and xanthine.

[2/] Upper row = phenotypic correlations, bold values indicate significant correlations. P-values for the difference from zero in parentheses.

* Correlation is significant at P<0.05; ** Correlation is significant at P<0.01.

ตารางที่ 4.14 ผลของการใช้สูตรอาหารพิวรีนต่ำ ต่อปริมาณนิวคลีโอไทด์ในเนื้ออก และสะโพกของเนื้อไก่โคราช

IMP[1/*] (mg/100 g)	T1	Low purine diets[2/]			Pooled SEM[3/]	P-value
		T2	T3	T4		
Body weight 1.2 kg. – aged 9 weeks (dry basis)						
Breast	348.66	348.84	344.76	337.33	6.26	0.92
Thigh	155.90	155.66	146.29	144.19	4.48	0.93
Body weight 1.7 kg. – aged 12 weeks (dry basis)						
Breast	360.05	361.47	357.21	344.44	5.34	0.72
Thigh	162.88	163.41	155.76	150.81	7.88	0.94

หมายเหตุ : *IMP; Inosine monophosphate.

[1/] วิเคราะห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์แต่ละระดับ และวิเคราะห์ความแตกต่างของ IMP ระหว่างอายุ 9 และ 12 สัปดาห์ ด้วยวิธี orthogonal contrast พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงไม่แสดงข้อมูล (P>0.05).

[2/] T1: สูตรควบคุม (กากถั่วเหลือง-ข้าวโพด); T2: สูตรอาหารพิวรีนต่ำ (ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 15%); T3: สูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนลง 1.5% (พิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 30%); T4: สูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีนต่ำลง 3.0% (พิวรีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 45%).

[3/] Pooled SEM: Standard error of the mean.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 5
สรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุป

จากการศึกษาปริมาณพิวรีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการคัดเลือกวัตถุดิบที่มีคุณสมบัติเหมาะสม สำหรับประกอบสูตรอาหารพิวรีนต่ำ และศึกษาผลของสูตรอาหารพิวรีนต่ำร่วมกับการลดระดับโปรตีน และเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ในอาหารไก่โคราช ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต คุณภาพซาก คุณภาพเนื้อ และปริมาณพิวรีนที่สะสมในเนื้อ โดยภาพรวมสรุปได้ ดังนี้

5.1.1 วัตถุดิบอาหารสัตว์แหล่งพลังงาน เช่น ข้าวโพด มันสำปะหลัง และรำข้าว จัดอยู่ในกลุ่มพิวรีนต่ำหรือต่ำมาก มีปริมาณพิวรีนน้อยกว่า 50 mg/100 g ส่วนวัตถุดิบอาหารสัตว์แหล่งโปรตีน เช่น เนื้อป่น และกากถั่วเหลืองจัดอยู่ในกลุ่มพิวรีนปานกลาง มีปริมาณพิวรีนอยู่ในช่วง 100-200 mg/100 g

5.1.2 การลดระดับพิวรีนในสูตรอาหาร (15-45% จากกลุ่มควบคุม) โดยวิธีการประกอบสูตรอาหารที่มีพิวรีนต่ำ ร่วมกับการลดระดับโปรตีนและเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ พบว่าไม่มีผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต คุณภาพซาก (ยกเว้นในไก่กลุ่มที่ได้รับอาหารพิวรีนต่ำ 45% พบการสะสมไขมันในช่องท้องที่เพิ่มขึ้น) การย่อยได้ของสิ่งแห้งและสารอินทรีย์ ($P>0.05$) และการใช้ประโยชน์ได้ของไนโตรเจนมีค่าเพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณกรดยูริกในซีรัม และในมูลมีค่าลดลง ตามระดับพิวรีนที่ลดลงในสูตรอาหาร ($P<0.05$)

5.1.3 ถึงแม้ว่าอาหารพิวรีนต่ำที่ระดับ 45% จากกลุ่มควบคุม จะสามารถลดปริมาณไฮโป-แซนทีนและพิวรีนทั้งหมดในเนื้ออกลงได้ 10.73% และ 10.29% (อายุ 9 สัปดาห์) ตามลำดับ และ 2.15% และ 5.78% (อายุ 12 สัปดาห์) ตามลำดับ แต่ค่าดังกล่าวไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) นอกจากนี้การลดพิวรีนในอาหารทุกระดับ ไม่มีผลกระทบต่อปริมาณความอร่อย (IMP) คุณภาพเนื้อ (เช่น ลักษณะสี ค่า pH การสูญเสียน้ำของเนื้อระหว่างการเก็บ การสูญเสียน้ำหลังการทำให้สุก และค่าแรงเฉือนของเนื้อ) และองค์ประกอบทางเคมี (เช่น โปรตีน และไขมัน) ในเนื้ออก และเนื้อสะโพกของไก่โคราชทั้งสองช่วงอายุ

โดยภาพรวม จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า อาหารพิวรีนต่ำทุกระดับไม่มีผลในการเปลี่ยนแปลงการสะสมพิวรีน และค่าอิโนซีนโมโนฟอสเฟต (IMP) ในเนื้อ ซึ่งอาหารพิวรีนต่ำ 30%

จากกลุ่มควบคุม อาจมีความเหมาะสมสำหรับไก่โคราชในแง่ของสมรรถนะการเจริญเติบโต คุณภาพเนื้อ และคุณภาพซาก

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 จากผลการทดลองครั้งนี้ พบว่าสามารถลดระดับพิวรีนในสูตรอาหารไก่โคราชลงได้ถึง 45% โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต แต่อย่างไรก็ตามยังไม่สามารถเปลี่ยนแปลงปริมาณพิวรีนที่สะสมในเนื้ออก และเนื้อสะโพกให้ลดลงได้ ทั้งนี้เนื่องมาจากร่างกายมีกลไกในการสังเคราะห์พิวรีนได้เอง ดังนั้นการลดการสะสมพิวรีนในเนื้อไก่ อาจพิจารณาใช้สารเสริมชนิดต่างๆ ที่มีคุณสมบัติในปรับเปลี่ยนกลไกการสังเคราะห์พิวรีน เช่น สารที่มีคุณสมบัติยับยั้งการทำงานเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส เพื่อยับยั้งการเปลี่ยนแซนทีนเป็นกรดยูริก หรือสารที่มีคุณสมบัติการทำงานคล้ายคลึงกับเอนไซม์ไฮโปแซนทีน ฟอสโฟไรโบซิลทรานสเฟอเรส (hypoxanthine phosphoribosyl transferase; HPRT) โดยทำหน้าที่ในการเปลี่ยนสารไฮโปแซนทีน ซึ่งเป็นอนุพันธ์พิวรีนที่ก่อให้เกิดโรคเกาต์มากที่สุดไปอยู่ในรูป IMP เป็นต้น

5.2.2 ถึงแม้ว่าการลดระดับโปรตีนในสูตรอาหารลง 3% ตลอดการเลี้ยง 12 สัปดาห์ ไม่มีผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่โคราช แต่อย่างไรก็ตามควรคำนึงถึงต้นทุนค่าอาหารด้วย เพราะการลดระดับโปรตีนที่มากเกินไป จำเป็นต้องเสริมกรดอะมิโนสังเคราะห์ที่หลากหลายชนิดมากขึ้น เพื่อสร้างความสมดุลในสูตรอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดอะมิโนสังเคราะห์ที่จำเป็นต่อร่างกายบางตัวมีราคาค่อนข้างแพง ดังนั้นการคัดเลือกวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีกรดอะมิโนในกลุ่มที่ยังไม่สามารถผลิตได้ในระดับอุตสาหกรรม เช่น อาร์จีนีน วาลีน ทริปโตแฟน และอื่นๆ เป็นอีกแนวทางหนึ่งที่สามารถลดต้นทุนค่าอาหารได้

5.2.3 จากผลการศึกษาในครั้งนี้ยังไม่สามารถตอบสมมุติฐานงานวิจัยได้อย่างชัดเจน ผู้วิจัยมีความเห็นว่า ควรมีการศึกษาในเชิงลึกระดับโมเลกุลเพิ่มเติม เช่น ด้าน proteomics หรือ metabolomics เป็นต้น เพื่อสร้างความเข้าใจในกลไกการสังเคราะห์พิวรีน นำไปสู่การผลิตเนื้อไก่ พิวรีนต่ำในอนาคตต่อไป

รายการอ้างอิง

จิรวัฒน์ ยงสวัสดิกุล และอมรรัตน์ โมพี. (2557). คุณภาพทางด้านเนื้อของไก่เนื้อโคราชระหว่างการเก็บแช่เยือกแข็ง. **สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.** 59 หน้า.

เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์, ศิริพร สิทธิประณีต, ธีรพงษ์ บัวบูชา, กนกทิพย์ ภักดีบำรุง, มัญชุมาส เพราะสุนทร และเกื้อการุณย์ ครูส่ง. (2559). ชีวเคมี (Biochemistry). **ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์** , จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 505 หน้า.

สมาคมรูมาติสซั่มแห่งประเทศไทย. แนวทางเวชปฏิบัติการดูแลรักษาโรคเกาต์ พ.ศ. (2555). Available from: URL: http://thairheumatology.org/attchfile/Guideline for Management of Gout.pdf

สาโรจน์ ค้าเจริญ. (2547). อาหารและการให้อาหารสัตว์ไม่เคี้ยวเอื้อง. **ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์**, มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 669 หน้า.

สมปอง ธรรมศิริรักษ์. (2549). เมแทบอลิซึมของนิวคลีโอไทด์. **ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์** มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 45 หน้า.

อัญชนะ พานิช, จุลภัทร ยศสุนทรากุล และสมชาย เอี่ยมอ่อง. Uric acid and Kidney. (2012). from http://www.kidneychula.com/download/Nephrology-2547/05.pdf.

American Association for Clinical Chemistry (AACC). (2012). Uric acid. Lab Tests Online®. from: http://labtestsonline.org/understanding/analytes/uric-acid/tab/test.

A. O. A. C. (2000). **Offcial Methods of Analysis.** 17th ed. Assoc. Anal. Chem., Arlington, VA.

Ardekani, H. M., and Chamani, M. (2012). Fortify low protein diet with supplemented essential amino acids on performance, carcase characteristics, and whole-body female broiler chickens. **Ann. Biol. Res.** 3(5):2208-2212.

Baker, D. H., Batal, A. B., Parr, T. M., Augspurger, N. R., and Parsons, C. M. (2002). Ideal ratio (relative to lysine) of tryptophan, threonine, isoleucine, and valine for chicks during the second and third weeks posthatch. **Poult. Sci**. 81(4): 485-494.

Bednarov, M., Borkovcov, M., and Komprda. T. (2014). Purine derivate content and amino acid profile in larval stages of three edible insects. **J. Sci. Food. Agric.** (94):71-76.

Boulianne, M., and King, A. J. (1995). Biochemical and color characteristics of skinless boneless pale chicken breast. **Poult. Sci**. 74(10):1693-1698.

Bregendahl, K., Sell, J. L., and Zimmerman, D. R. (2002). Effect of low-protein diets on growth performance and body composition of broiler chicks. **Poult. Sci.** 81(8). 1156-1167.

Brule, D., Sarwar, G., and Savoie, L. (1992). Changes in serum and urinary uric acid levels in normal humansubjects fed purine-rich foods containing different amounts of adenine and hypoxanthine. **J. Am.Coll. Nutr.** 3(11): 353-358.

Carro, M. D., Falkenstein, E., Radke, W. J., and Klandorf, H. (2010). Effects o f allopurinol on uric acid concentrations, xanthine oxidoreductase activity and oxidative stress in broiler chickens. **Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol Pharmacol**. 151(1): 12-17.

Chantra Tanunyutthawongse. (2017). Biochemistry of hyperuricemia and gout. **J. Med. Health. Sci.** 24(3): 89-106.

Choi, H. K., Atkinson. K., Karlson, EW., Willett, W., and Curhan, G. (2004). Purine-rich foods, dairy and protein intake, and the risk of gout in men. **N. Engl. J. Med.** 350(11): 1093-1103.

Choi, H. K., Atkinson, G., Karlson, E.,and Curhan, G. (2005). Obesity weight change hypertension diuretic use and risk of gout in men. **Arch. Intern. Med.** 165(7): 742-748.

Choi, J., Song, J., Choi, Y. M., Jang, D. J., Kim, E., Kim, I., and Chee, K. M. (2006). Daidzein modulations of apolipoprotein B and fatty acid synthase mRNA expression in chick liver vary depending on dietary protein levels. **Asian. Australas. J. Anim. Sci.** 19: 236-244.

Choi, K., Kim, Y., Park, J., Park, C. K., Kim, M., Kim, H. S., and Kim, P. (2008). Seasonal variations of several pharmaceutical residues in surface water and sewage treatment plants of Han River, Korea. **Sci. Total. Environ.** 405(1-3): 120-128.

Clark, E. M., Mahoney, A. W., and Carpenter, C. E. (1997). Heme and total iron in ready-to-eat chicken. **J. Agric. Food. Chem.** 45(1): 124-126.

Coles, B. H. (2007). Essentials of avian medicine and surgery. **Blackwell Plublication.** Oxford.

Collin, A., Malheiros, R. D., Moraes, V. M., Van As, P., Darras, V. M., Taouis, M., and Buyse, J. (2003). Effects of dietary macronutrient content on energy metabolism and uncoupling protein mRNA expression in broiler chickens. **Br. J. Nutr.** 90(2): 261-269.

Cooper, N., Khosravan, R., Erdmann, C., Fiene, J., and Lee, J.W. (2006). Quantification of uric acid, xanthine and hypoxanthine in human serum by HPLC for pharmacodynamic studies. **J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.** 837(1-2): 1-10.

Coffee, C. J., and Solano, C. (1977). Rat muscle 5 adenlylic acid aminohydrolase, role of k^+ and adenylate enery charge in expression of kinetic and regulatory properties. **J. Biol. Chem.** 252: 1606-1612.

Cowieson, A. J., and Ravindran, V. (2008). Effect of exogenous enzymes in maize-based diets varying in nutrient density for young broilers: growth performance and digestibility of energy, minerals and amino acids. **Br. Poult. Sci.** 49(1): 37-44.

Clifford, A. J., Riumallo, J. A., Young, V. R., and Scrimshaw. N. S. (1976). Effect of oral purines on serum and urinary uric acid of normal, hyperuricemic and gouty humans. **J. Nutr.** 106: 428-434.

Darsi, E., Shivazad, M., Zaghari, M., Namroud, N. F., and Mohammadi, R. (2012). Effect of reduced dietary crude protein levels on growth performance, plasma uric acid and electrolyte concentration of male broiler chicks. **J. Agr. Sci. Tech**. 14: 789-797.

Daneshmand, A., Kermanshahi, H., Danesh Mesgaran, M., King, A. J., and Ibrahim, S. A. (2017). Effect of purine nucleosides on growth performance, gut morphology, digestive enzymes, serum profile and immune response in broiler chickens. **Br. Poult. Sci.** 58(5): 536-543.

Dawson, P., Sheldon, B., and Miles, J. (1991). Effect of aseptic processing on the texture of chicken meat. **Poult. Sci.** 70(11): 2359-2367.

Donsbough, A. L., Powell, S., Waguespack, A., Bidner, T. D., and Southern, L. L. (2010). Uric acid, urea, and ammonia concentrations in serum and uric acid concentration in excreta as indicators of amino acid utilization in diets for broilers. **Poult Sci.** 89(2): 287-294.

Ellington, A. (2005). Reduction of purine content in commonly consumed meat products through rinsing and cooking. **Ph.D. Thesis.** University of Georgia, Athens.

Ellington, A. (2007). Reduction of purine content in commonly consumed meat products through rinsing and cooking (Doctoral dissertation, uga).

Fawcett, J. K., and Scoot, J. T. (1960). Urea by berthlot method. **J. Clin. Path**. 13: 156.

Forconi1, M., Biscotti1, M. A., Barucca1, M., Buonocore, F., Moro, G. D., Fausto, A. M., Gerdol, M., Pallavicini, A., Scapigliati, G., Schartl, M., Olmo, E., and Canapa, A. (2014). Characterization of purine catabolic pathway genes in coelacanths. **J. Exp. Zool.** 322(6): 334-341.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Fox, I. H. (1981). Metabolic basis for disorders of purine nucleotide degradation. **Metabolism**, 30(6): 616-634.

Gheisari, H. R., Asasi, K., Mostafa I., and Mohsenifard, E. (2015). Effect of different levels of dietary crude protein on growth performance, body composition of broiler chicken and low protein diet in broiler chicken. **Int. J. Poult. Sci.** 14(5): 285-292.

Havroslav, J., Plachy, V., Fernandez, J., and Rada, V. (2010). Comprehensive reviews in food science and food safety. **J. Sci. Food. Agric**. 90: 2352- 2357.

Hess, J. R., and Greenberg, N. A. (2012). The role of nucleotides in the immune and gastrointestinal systems: potential clinical applications. **Nutr. Clin. Pract**. 27(2): 281-294.

Huang, R. M., Chen, Y. N., Zeng, Z., Gao, C. H., Su, X., and Peng, Y. (2014). Marine nucleosides: Structure, bioactivity, synthesis and biosynthesis. **Mar. Drugs**. 12(12): 5817-5838.

Huff-Lonergan, E., Baas, T. J., Malek, M., Dekkers, J. C., Prusa, K., and Rothschild, M. F. (2002). Correlations among selected pork quality traits. **J. Anim. Sci**. 80(3): 617-627.

Inazawa, K., Sato, A., Kato, Y., Yamaoka, N., Fukuuchi, T., Yasuda, M., and Kaneko, K. (2014). Determination and profiling of purines in foods by using HPLC and LC-MS. **Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids**. 33(4-6): 439-444.

Janisch, S., Krischek, C., and Wicke, M. (2011). Color values and other meat quality characteristics of breast muscles collected from 3 broiler genetic lines slaughtered at 2 ages. **Poult. Sci**. 90(8): 1774-1781.

Jung, S., Bae, Y. S., Kim, H. J., Jayasena, D. D., Lee, J. H., Park, H. B., and Jo, C. (2013). Carnosine, anserine, creatine, and inosine 5′-monophosphate contents in breast and thigh meats from 5 lines of Korean native chicken. **Poult. Sci**. 92(12): 3275-3282.

Kamran, Z., Sarwar, M., Nisa, M., Nadeem, M. A., Ahmad, S., Mushtaq, T., and Shahzad, M. A. (2008). Effect of lowering dietary protein with constant energy to protein ratio on growth, body composition and nutrient utilization of broiler chicks. **Asian-Australas. J. Anim. Sci.** 21(11): 1629-1634.

Kamran, Z., Sarwar, M., Nisa, M., Nadeem, M. A., Mahmood, S., Babar, M. E., and Ahmed, S. (2008). Effect of low-protein diets having constant energy-to-protein ratio on performance and carcass characteristics of broiler chickens from one to thirty-five days of age. **Poult. Sci.** 87(3): 468-474.

Kanbay, M., Solak, Y., Dogan, E., Lanaspa, M. A., and Covic, A. (2010). Uric acid in hypertension and renal disease: the chicken or the egg. **Blood. Purif**. 30(4): 288-295.

Kaneko, K., Kudo, Y., Yamanobe, T., Mawatari, K., Yasuda, M., Nakagomi, K., and Fujimori, S. (2008). Purine contents of soybean-derived foods and selected Japanese vegetables and mushrooms. **Nucleosides, Nucleotides, and Nucleic Acids**. 27(6-7): 628-630.

Kaneko, K., Yasuo, A., Tomoko, F., Katsunori, I., and Noriko, Y. (2014). Total purine and purine bas content of common foodstuffs for facilitating nutritional therapy for gout and hyperuricemia. **Biol. Pharm. Bull.** 37(5): 709-721.

Kassim, H., and Suwanpradit, S. (1996). The effects of dietary protein levels on the carcass composition of starter and grower broilers. **Asian-Australas. J. Anim. Sci.** 9(3): 261-266.

Kawai, M., Okiyama, A., and Ueda, Y. (2002). Taste enhancements between various amino acids and IMP. **Chemical. Senses.** 27(8): 739-745.

Kobayashi, S., Asakura, K., Suga, H., and Sasaki, S. (2013). High protein intake is associated with low prevalence of frailty among old Japanese women: a multicenter cross-sectional study. **Nutr. J**. 12(1): 164.

Koyama, Y., Tmada, Y., Kato, M., and Ashihara, H. (2003). Metabolism of purine bases nucleosides and alkaloids in theobromine-forming Theobroma cacao leaves. **P. Physiol. Biochem.** 41(11-12): 977-984.

Kumta, U. S., and Harper, A. E. (1961). Amino acid balance and imbalance. 7. Effects of dietary additions of amino acids on feed intake and blood urea concentration of rats fed low-protein diets containing fibrin. **J. Nutr. Sci.** 139-147.

Kiratikrankul, B., And Yongsawatdigul, J. (2016). Purines and meat quality of chicken meat from various breeds. **62nd International Congress of Meat Science and Technology**. 14-19 August, Bangkok, Thailand. 3-6.

Lou, S. N., Chen, H. H., Hsu, P. Y., and Chang, D. H. (2005). Changs in purine content of tilapia surimi product during processing. **Fisheries. Sci.** 71: 859-895.

Louthrenoo, W., Hongsongkiat, S., Kasitanon, N., Wangkaew, S., and Jatuworapruk, K. (2015). Effect of antituberculous drugs on serum uric acid and urine uric acid excretion. JCR: **J. Clin. Rheumatol.** 21(7): 346-348.

Maliwan, P. (2016). Energy and protein requirements of Korat chickens from 0 to 12 weeks of age. **Ph.D Thesis.** Suranaree University of Technology, Thailand.

Moriwaki, Y., Yamamoto, T., and Higashino. K., (1999). Enzymes involved in purine metabolism. A review of histochemical localization and functional implications. **Histol. Histopathol**. 14: 1321-1340.

Namroud, N. F., Shivazad, M., and Zaghari, M. (2008). Effects of fortifying low crude protein diet with crystalline amino acids on performance, blood ammonia level, and excreta characteristics of broiler chicks. **Poult. Sci**. 87(11): 2250-2258.

National Research Council. (1994). **Nutrient Requirements of Poultry**, 9th Revised Edition, National Research Council, National Academy of Sciences, Washington, D.C.

Perez-Ruiz, F., Dalbeth, N., and Bardin, T. (2015). A review of uric acid, crystal deposition disease, and gout. **Ther. Adv.** 32(1): 31-41.

Poelzer, C., and Hildebrand, K. A. (2004). Gout of the wrist. **J. Hand. Surg. Am.** 4(4): 256-265.

Pospisilova, J., Vit, O., Lorkova, L., Klanova, M., Zivny, J., Klener, P., and Petrak, J. (2013). Resistance to TRAIL in mantle cell lymphoma cells is associated with the decreased expression of purine metabolism enzymes. **Int. J. Mol. Med.** 31(5): 1273-1279.

Qiao, M., Fletcher, D. L., Smith, D. P., and Northcutt, J. K. (2002). Effects of raw broiler breast meat color variation on marination and cooked meat quality. **Poult. Sci**. 81(2): 276-280.

Ragab, S. M., Elghaffar, S. K. A., El-Metwally, T. H., Badr, G., Mahmoud, M. H., and Omar, H. M. (2015). Effect of a high fat, high sucrose diet on the promotion of non-alcoholic fatty liver disease in male rats: the ameliorative role of three natural compounds. **Lipids. Health. Dis**. 14(1): 83.

Rehman, Z. U., Kamran, J., El-Hack, M. A., Alagawany, M., Bhatti, S. A., Ahmad, G., and Ding, C. (2018). Influence of low-protein and low-amino acid diets with different sources of protease on performance, carcasses and nitrogen retention of broiler chickens. **Anim. Prod. Sci**. 58(9): 1625-1631.

Rikimaru, K., and Takahashi, H. (2010). Evaluation of the meat from Hinai-jidori chickens and broilers: Analysis of general biochemical components, free amino acids, inosine 5′-monophosphate, and fatty acids. **J. Appl. Poult. Res.** 19(4): 327-333.

Searcy, R. L., Wilding, P., and Berk, J. E. (1967). An appraisal of methods for serum amylase determination. **Clinica. Chimica. Acta.** 15(2): 189-197.

Shao, D., Shen, Y., Zhao, X., Wang, Q., Hu, Y., Shi, S., and Tong, H. (2018). Low-protein diets with balanced amino acids reduce nitrogen excretion and foot pad dermatitis without

affecting the growth performance and meat quality of free-range yellow broilers**. Ital. J. Anim. Sci**. 17(3): 698-705.

Shi, M., Lam, T. T. Y., Hon, C. C., Hui, R. K. H., Faaberg, K. S., Wennblom, T., and Leung, F. C. C. (2010). Molecular epidemiology of PRRSV: a phylogenetic perspective. **Virus. Research**. 154(1-2): 7-17.

Short, F. J., Gorton, P., Wiseman, J., and Boorman, K. N. (1996). Determination of titanium dioxide added as an inert marker in chicken digestibility studies. **Anim. Feed Sci. Technol.** 59(4): 215-221.

Smith, J. G., and Newton Cheh, C. (2015). Genome-wide association studies of late onset cardiovascular disease. **J. Mol. Cell. Cardiol.** 83: 131-141.

Stevens, D. R., and Haas, H. L. (1996). Purines in epilepsy. Current problems in epilepsy, 12: 55-68.

Swennen, Q., Janssens, G. P. J., Decuypere, E., and Buyse, J. (2004). Effects of substitution between fat and protein on feed intake and its regulatory mechanisms in broiler chickens: energy and protein metabolism and diet-induced thermogenesis. **Poult. Sci.** 83(12): 1997-2004.

Swennen, Q., Janssens, G. P. J., Millet, S., Vansant, G., Decuypere, E., and Buyse, J. (2005). Effects of substitution between fat and protein on feed intake and its regulatory mechanisms in broiler chickens: Endocrine functioning and intermediary metabolism. **Poult. Sci.** 84(7): 1051-1057.

Swennen, Q., Janssens, G. J., Collin, A., Le Bihan-Duval, E., Verbeke, K., Decuypere, E., and Buyse, J. (2006). Diet-induced thermogenesis and glucose oxidation in broiler chickens: influence of genotype and diet composition. **Poult. Sci**. 85(4): 731-742.

Wang, X. F., Liu, G. H., Cai, H. Y., Chang, W. H., Ma, J. S., Zheng, A. J., and Zhang, S. (2014). Attempts to increase inosinic acid in broiler meat by using feed additives. **Poult. Sci**. 93(11): 2802-2808.

Wagner, J. R., Titus, D. S., and Schade, J. E. (1963). New opportunities for flavor modification. **Food. Technol**. 17(6): 730-735.

Wattanachant, S., Benjakul, S., and Ledward, D. A. (2004). Composition, color, and texture of Thai indigenous and broiler chicken muscles. **Poult. Sci.** 83(1): 123-128.

Wu, G. (2009). Amino acids: Metabolism, functions, and nutrition. **Amino. Acids.** 37:1-17.

Yalcin, S., Babacanoglu, E., Guler, H. C., and Aksit, M. (2010). Effects of incubation temperature on hatching and carcass performance of broilers. **Worlds. Poult. Sci. J**. 66(1): 87-94.

Yamaoka, N., Kudo, Y., Inazawa, K., Inagawa, S., Yasuda, M., Mawatari, K. I., and Kaneko, K. (2010). Simultaneous determination of nucleosides and nucleotides in dietary foods and beverages using ion-pairing liquid chromatography–electrospray ionization-mass spectrometry. **J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci**. 878(23): 2054-2060.

Yamaoka-Tojo, M., Tojo, T., Takahira, N., Matsunaga, A., Aoyama, N., Masuda, T., and Izumi, T. (2010). Elevated circulating levels of an incretin hormone, glucagon-like peptide-1, are associated with metabolic components in high-risk patients with cardiovascular disease. **Cardiovasc. Diabetol**. 9(1): 17.

Yamazaki, M., Murakami, H., Nakashima, K., Abe, H., and Takemasa, M. (2006). Effects of excess essential amino acids in low protein diet on abdominal fat deposition and nitrogen excretion of the broiler chicks. **Poult. Sci**. 43(2): 150-155.

Zhang, Z. R., Qing, Z. H. U., and Liu, Y. P. (2007). Correlation analysis on single nucleotide polymorphism of CAPN1 gene and meat quality and carcass traits in chickens. **Agr. Sci. China**. 6(6): 749-754.

Zhang, G. Q., Ma, Q. G., and Ji, C. (2008). Effects of dietary inosinic acid on carcass characteristics, meat quality, and deposition of inosinic acid in broilers. **Poult. Sci.** 87(7): 1364-1369.

Zhao, J., Liang, Q., Luo, G., Wang, Y., Zuo, Y., Jiang, M., and Zhang, T. (2005). Purine metabolites in gout and asymptomatic hyperuricemia: analysis by HPLC–electrospray tandem mass spectrometry. **J. Clin. Chem**. 51(9): 1742-1744.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาคผนวก

วิธีการดำเนินงานทางห้องปฏิบัติการ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

1. การวิเคราะห์การย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ ด้วยวิธีการใช้สารบ่งชี้ไททาเนียมไดออกไซด์

การวิเคราะห์การย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ โดยการวิเคราะห์ปริมาณไททาเนียมไดออกไซด์ (Titanium dioxide; TiO_2) ในอาหารและมูล เพื่อบ่งชี้ทดสอบการย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ โดยการดัดแปลงจากวิธีการของ Short et al. (1996)

วัสดุและอุปกรณ์

1. ถ้วยกระเบื้อง (crucible)
2. เครื่องให้ความร้อน (hotplate)
3. ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask)
4. กระดาษกรอง Whatman No. 541
5. เตาเผาอุณหภูมิสูง (furnaces) (ยี่ห้อ Carbolite Gero; Germany)
6. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) (ยี่ห้อ Thermo Scientific; Multiskan GO)

สารเคมี

1. ไททาเนียมไดออกไซด์ (Titanium dioxide; TiO_2) (ยี่ห้อ Sigma-Aldrich; Germany)
2. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 30% (H_2O_2) (ยี่ห้อ Chem-Supply; Australia)
3. กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid; H_2SO_4) (ยี่ห้อ Ajax Finechem; Australia)
4. การเตรียมกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) 7.4 M: โดยใช้ H_2SO_4 จำนวน 414.88 มิลลิลิตร เติมลงในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

1.1 วิธีการเตรียมสารละลายไททาเนียมไดออกไซด์มาตรฐาน ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

1. ชั่งสารไททาเนียมไดออกไซด์ 125 มิลลิกรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้อง จากนั้นนำไปเผาที่อุณหภูมิ 580 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 13 ชั่วโมง และรอให้ถ้วยตัวอย่างเย็น
2. ทำการละลายไททาเนียมไดออกไซด์ ด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
3. นำถ้วยสารละลายไททาเนียมไดออกไซด์มาตรฐาน วางบนเครื่องให้ความร้อน จนกว่าไททาเนียมไดออกไซด์ละลาย
4. นำสารละลายมาเทใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ที่เตรียมไว้

5. จากนั้น เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 250 มิลลิลิตร

6. เตรียมสารละลายมาตรฐานไททาเนียมไดออกไซด์ ที่มีความเข้มข้น 0.01 0.02 0.03 0.04 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1

7. จากนั้น นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร ซึ่งจะได้ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน ดังแสดงในตารางที่ 2

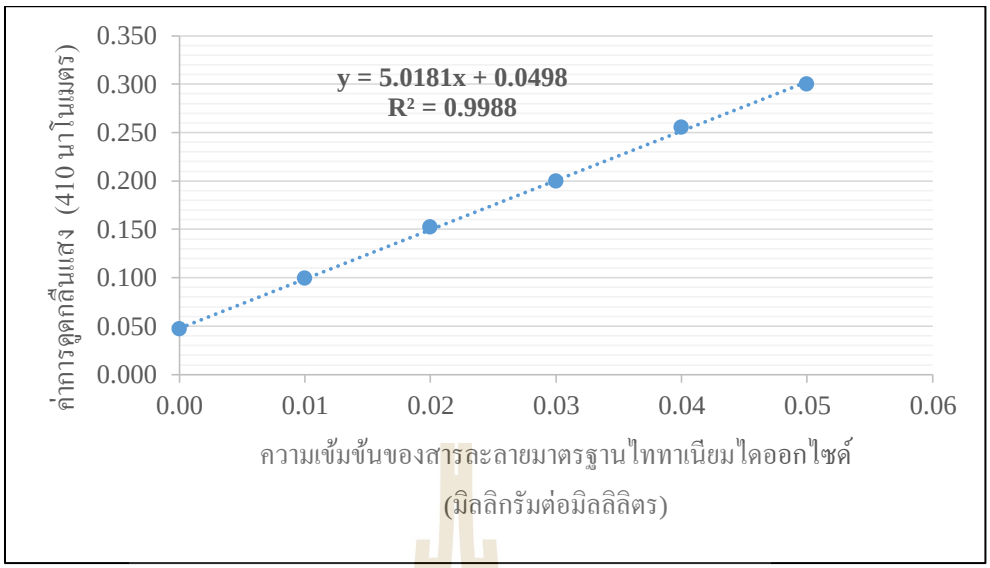
ตารางที่ 1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานไททาเนียมไดออกไซด์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	**สารละลาย TiO_2 (มิลลิลิตร)**	**7.4 M H_2SO_4 (มิลลิลิตร)**	**H_2O_2 (30%) (มิลลิลิตร)**	**น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)**
0.00	0	10	20	70
0.01	2	8	20	70
0.02	4	6	20	70
0.03	6	4	20	70
0.04	8	2	20	70
0.05	10	0	20	70

ตารางที่ 2 แสดงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไททาเนียมไดออกไซด์

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตร)	**ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 410 นาโนเมตร**
0.00	0.047
0.01	0.099
0.02	0.152
0.03	0.199
0.04	0.255
0.05	0.300

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 1 กราฟสารละลายมาตรฐานไททาเนียมไดออกไซด์

1.2 วิธีการเตรียมตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่างมา 0.1 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องที่เตรียมไว้
2. นำไปเผาที่อุณหภูมิ 580 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 13 ชั่วโมง เมื่อครบเวลารอให้ถ้วยตัวอย่างเย็นลง
3. จากนั้น เติมสารละลายกรด 7.4 M H_2SO_4 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในถ้วยตัวอย่าง (ทำในตู้ดูดควัน)
4. นำไปต้มบนเครื่องให้ความร้อน เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เพื่อให้ไททาเนียมไดออกไซด์ละลาย
5. เมื่อครบเวลา รอให้ตัวอย่างเย็น และเติมน้ำกลั่น ปริมาตร 25 มิลลิลิตร
6. กรองสารละลายตัวอย่างด้วยกระดาษกรองเบอร์ 541 ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร จากนั้น ใช้น้ำกลั่นชะล้างสารละลายตัวอย่างออกจากถ้วยให้หมด
7. เติมสารละลาย H_2O_2 30% ปริมาตร 20 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร
8. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร

1.3 วิธีการคำนวณ

การคำนวณความเข้มข้น โดยการอ่านค่าความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐานไททาเนียม-ไดออกไซด์ โดยกำหนดให้แกน x คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไททาเนียมไดออกไซด์ และกำหนดให้แกน y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตร

2. การวิเคราะห์พิวรีน และอนุพันธ์พิวรีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์

การวิเคราะห์ปริมาณพิวรีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ ดัดแปลงตามวิธีการของ Kaneko et al. (2014)

วัสดุและอุปกรณ์

1. Nylon syringe filter 0.45 micrometer
2. กระดาษกรอง (membrane filters) 0.45 ไมครอน
3. ขวด vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร พร้อมฝาปิด
4. ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask)
5. เครื่อง Performance Liquid High Chromatography (HPLC) (รุ่น Agilent Technologies 1260 infinity; Germany)
6. เครื่องโซนิเคเตอร์ (ultrasonic water bath)
7. เครื่องวัดค่า pH (pH meter) (ยี่ห้อ Sartorius)
8. เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) (รุ่น Thermo Scientific™; Heraeus Biofuge Stratos Centrifuge)
9. ชุดกรองสารละลาย (vacuum filtration)
10. บีกเกอร์ (beaker)
11. ไมโครปิเปต (micropipette)
12. หลอดพลาสติก ขนาด 50 มิลลิลิตร พร้อมฝาปิด
13. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)

สารเคมี

1. Sodium phosphate monobasic (NaH_2PO_4) (ยี่ห้อ Kemaus; Australia)
2. Sodium hydroxide (NaOH) (ยี่ห้อ Kemaus; Australia)
3. Hydrochloric acid (HCl) (ยี่ห้อ Carlo Erba; Italy)
4. Phosphoric acid (85%) (ยี่ห้อ RCI Labscan)
5. Perchloric acid (70-72%) (ยี่ห้อ RCI Labscan)
6. Potassium hydroxide (30%) (ยี่ห้อ Kemaus; Australia)
7. Methanol (HPLC grade) (ยี่ห้อ RCI Labscan)
8. สารละลายมาตรฐานพิวรีน และอนุพันธ์พิวรีน (Sigma-Aldrich; China)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

8.1 อะดีนีน (adenine); $C_5H_5N_5$, MW. 135.13 g/mol, assay: 99%

8.2 กวานีน (guanine); $C_5H_5N_5O$, MW. 151.13 g/mol, assay: 98%

8.3 ไฮโปแซนทีน (hypoxanthine); $C_5H_4N_4O$, MW. 136.11 g/mol, assay: 99%

8.4 แซนทีน (xanthine); $C_5H_4N_4O_2$, MW. 152.11 g/mol, assay: 99%

8.5 กรดยูริก (uric acid); $C_5H_4N_4O_3$, MW. 168.11 g/mol, assay: 99%

2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลต่อลิตร

1. ทำการเตรียม stock solution ของสารมาตรฐาน โดยชั่งสารมาตรฐานตามน้ำหนัก ดังแสดงในตารางที่ 3 ลงในบีกเกอร์ จากนั้นเติมน้ำกลั่น ปริมาตร 20 มิลลิลิตร และค่อยๆ หยด 1 N NaOH เพื่อช่วยละลายตัวอย่าง และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 25 มิลลิลิตร แบ่งเก็บสารละลายมาตรฐานลงในหลอดเก็บตัวอย่าง เก็บที่ -20 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 3 การเตรียม stock solution สารละลายมาตรฐานพิวรีน และอนุพันธ์พิวรีน

สารละลายมาตรฐาน	มวลโมเลกุล (กรัม/โมล)	ปริมาณสาร (มิลลกรัม)
อะดีนีน	135.13	3.38
กวานีน	151.13	3.78
ไฮโปแซนทีน	136.11	3.40
แซนทีน	152.11	3.80
กรดยูริก	168.11	4.20

2. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน สำหรับพร้อมใช้งาน (working standard)

2.1 ดูดสารละลายมาตรฐานจาก stock solution ที่เตรียมไว้ ลงในขวดปรับปริมาตร ตามปริมาตรดังแสดงในตารางที่ 4 และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 5 มิลลิลิตร ซึ่งจะได้ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานสำหรับพร้อมใช้งาน ดังแสดงในตารางที่ 5

2.2 กรองสารละลายมาตรฐานด้วย nylon syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอน ใส่ในขวด vial แล้วปิดฝา สำหรับนำไปวิเคราะห์ ด้วยเครื่อง HPLC ต่อไป

ตารางที่ 4 การเตรียมสารละลายมาตรฐานพิวรีนและอนุพันธ์พิวรีน ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ปริมาตรสารละลายมาตรฐาน (µl)	ชุด 1	ชุด 2	ชุด 3	ชุด 4	ชุด 5
อะดีนีน	50	250	500	0	1000
กวานีน	50	250	500	1,000	0
ไฮโปแซนทีน	250	750	1,500	3,000	0
แซนทีน	25	125	250	0	500
กรดยูริก	25	125	250	0	500

ตารางที่ 5 แสดงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานพิวรีน และอนุพันธ์พิวรีน (mmol/L)

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน (mmol/L)	ชุด 1	ชุด 2	ชุด 3	ชุด 4	ชุด 5
อะดีนีน	0.01	0.05	0.10	0.00	0.20
กัวนีน	0.01	0.05	0.10	0.20	0.00
ไฮโปแซนทีน	0.05	0.15	0.30	0.60	0.00
แซนทีน	0.005	0.025	0.05	0.00	0.10
กรดยูริก	0.005	0.025	0.05	0.00	0.10

2.2 การเตรียมตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดแล้วมา 0.5 กรัม ใส่ในหลอดพลาสติก ขนาด 50 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลาย perchloric acid 70% ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่น ปริมาตร 5 มิลลิลิตร
3. นำตัวอย่างไปต้มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส พร้อมเขย่า 180 rpm เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
4. เมื่อครบเวลา นำตัวอย่างออกและแช่ในอ่างน้ำแข็ง เพื่อให้ตัวอย่างเย็นลง
5. ปรับสารละลายตัวอย่างให้เป็นกลาง (pH 7) ด้วยสารลาย KOH 30% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร (อัตราส่วนของตัวอย่าง และด่างประมาณ 1:1)
6. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,500 x g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที
7. กรองสารละลายตัวอย่างด้วย nylon syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอน ใส่ในขวด vial แล้ว ปิดฝา สำหรับวิเคราะห์ HPLC ต่อไป

หมายเหตุ: สามารถเก็บตัวอย่าง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน ก่อนการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2.3 การเตรียมเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase); 150 mM Sodium phosphate buffer, pH 2.5

1. ชั่งสาร NaH_2PO_4 จำนวน 20.70 กรัม ลงในบีกเกอร์

2. เติมน้ำกลั่น (Type I) ประมาณ 800 มิลลิลิตร แล้วปรับ pH เป็น 2.5 ด้วย phosphoric acid และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร จากนั้น นำสารละลายกรองผ่านกระดาษกรอง nylon filter membrane ขนาด 0.45 ไมครอน

3. ทำการไล่แก๊ส (degas) ด้วยเครื่องโซนิเคเตอร์ เป็นเวลา 30 นาที

4. น้ำกลั่น Type (I) สำหรับใช้ล้างคอลัมน์ และระบบ HPLC ต้องกรองผ่านด้วยกระดาษกรอง nylon filter membrane ขนาด 0.45 ไมครอน และนำไปไล่แก๊ส เป็นเวลา 30 นาที ก่อนใช้ทุกครั้ง

2.4 วิธีการวิเคราะห์พิวรีน และอนุพันธ์พิวรีน ด้วยเครื่อง HPLC

1. คอลัมน์: Zorbax SB-C18 4.6 x 250 mm 3.5 µm

2. Mobile phase: sodium phosphate buffer 150 mM (pH 2.5) อัตราการไหล (flow rate): 0.6 มิลลิลิตรต่อนาที

3. อุณหภูมิของคอลัมน์: 35-40 องศาเซลเซียส

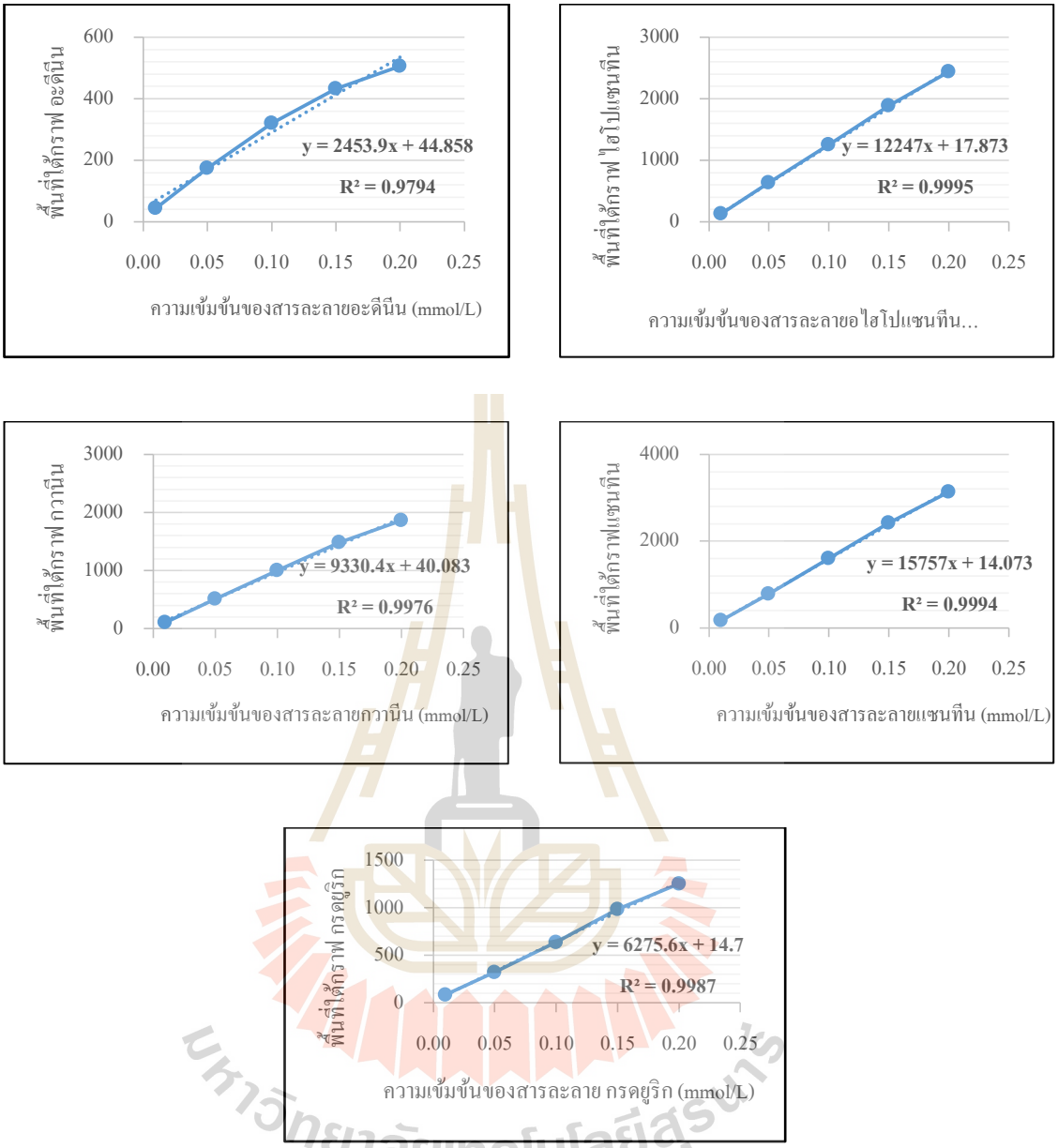
4. ความยาวคลื่น (wavelength): 260 นาโนเมตร

5. ปริมาณการฉีด (injection): 20 ไมโครลิตร

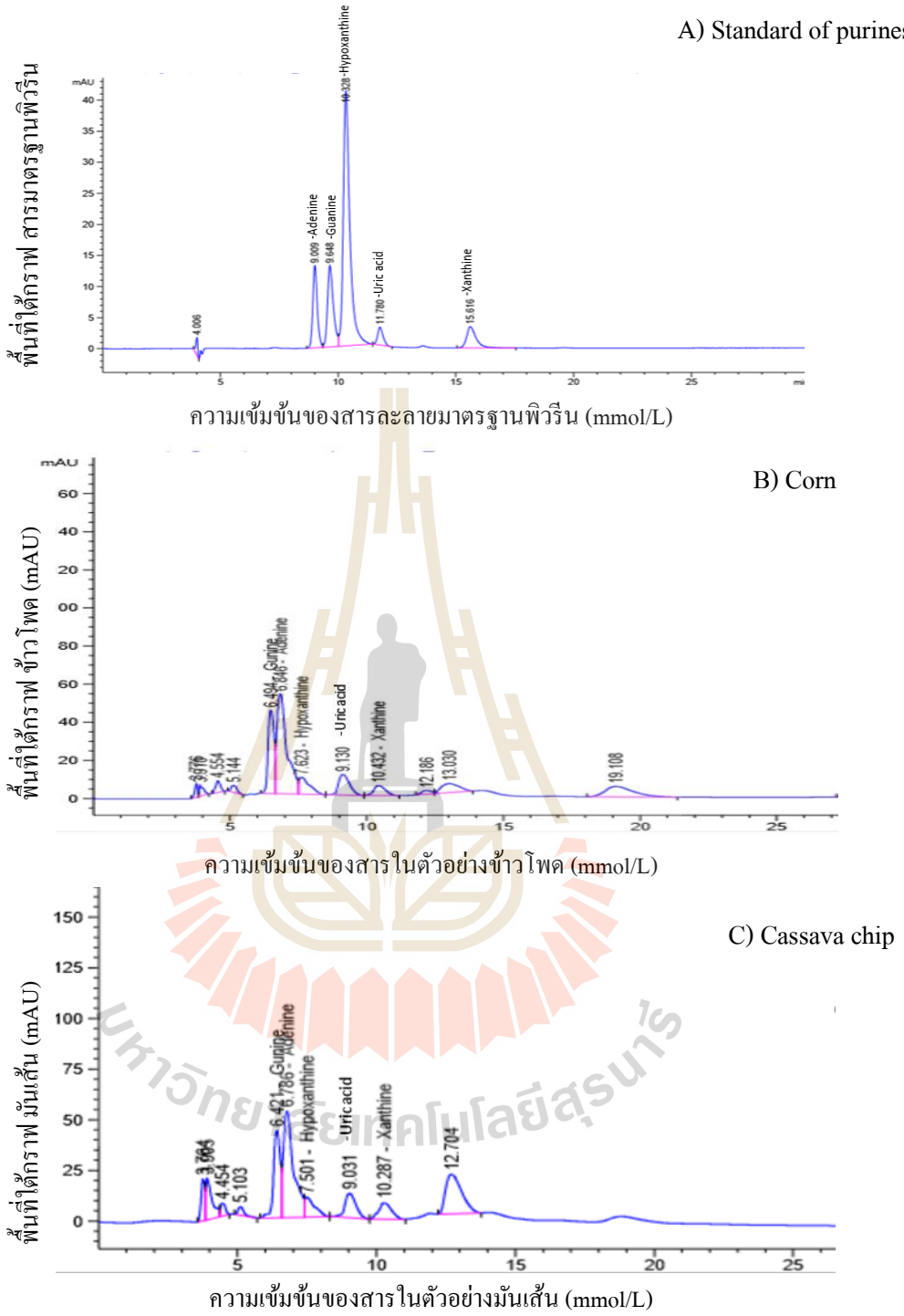
2.5 วิธีการคำนวณพิวรีน และอนุพันธ์พิวรีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์

การหาความเข้มข้นปริมาณพิวรีนและอนุพันธ์ ทำได้โดยการแทนค่าในสมการของสารมาตรฐานพิวรีนแต่ละชนิด ที่วิเคราะห์ได้จากเครื่อง HPLC ดังแสดงในภาพที่ 2

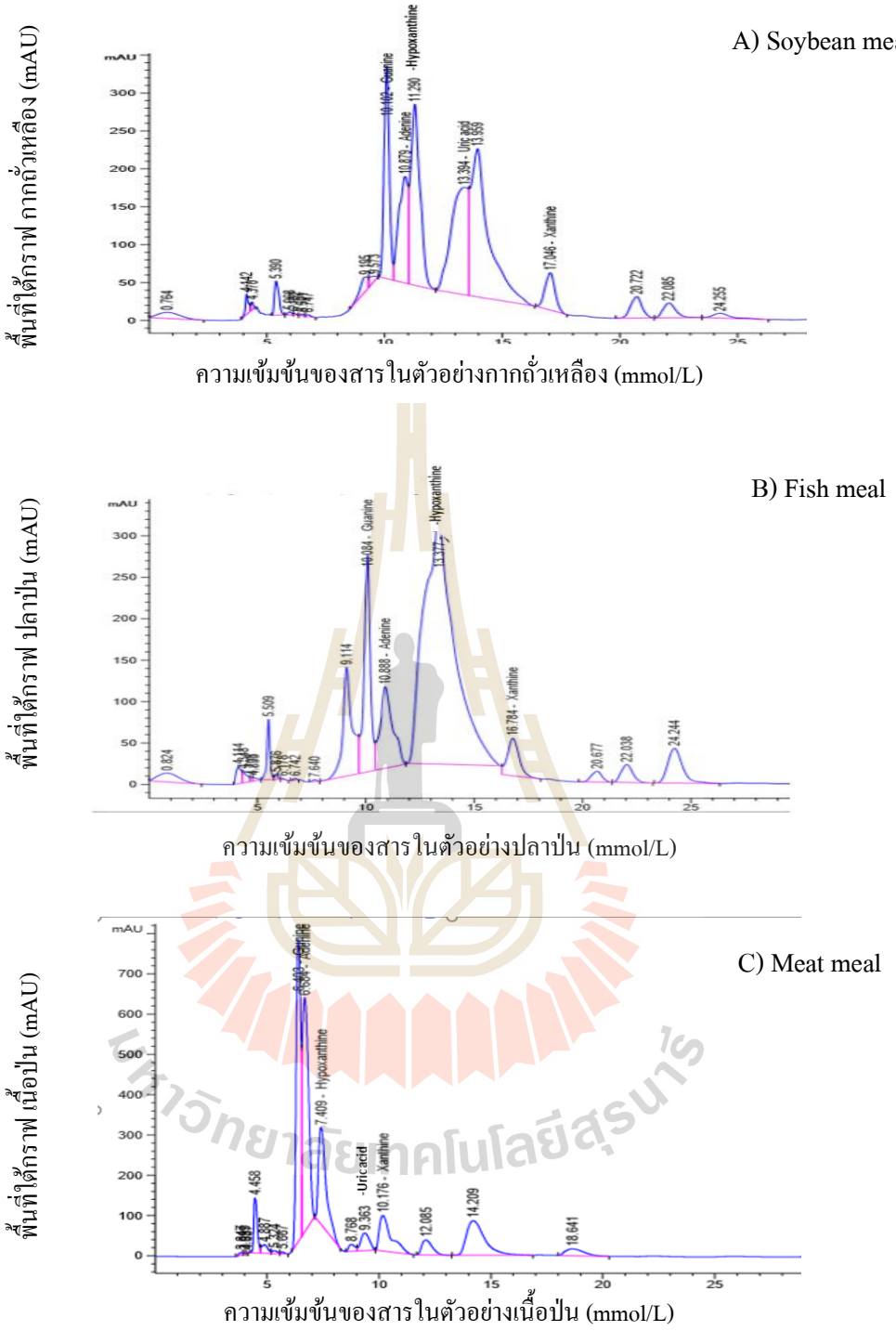
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 2 กราฟมาตรฐานของสารละลายอะดีนีน กวานีน ไฮโปแซนทีน แซนทีน และกรดยูริกในการวิเคราะห์ปริมาตรพิวรีน และอนุพันธ์พิวรีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์



ภาพที่ 3 โครโมโตกราฟ และลำดับของ retention time ของสารมาตรฐานพิวรีน และอนุพันธ์พิวรีน (A) และตัวอย่างโครโมโตกราฟพิวรีน และอนุพันธ์พิวรีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ ประกอบด้วย corn (B) และ cassava chip (C)



ภาพที่ 4 ตัวอย่างโครโมโตกราฟพิวรีน และอนุพันธ์พิวรีนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ ประกอบด้วย soybean meal (A), fish meal (B), และ meat meal (C)

3. การวิเคราะห์กรดยูริกในมูล (Uric acid in excreta)

การวิเคราะห์หาปริมาณกรดยูริกในมูล โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Lou et al., (2005)

วัสดุและอุปกรณ์

1. Nylon syringe filter 0.45 micrometer
2. กระดาษกรอง (membrane filters) 0.45 ไมครอน
3. ขวด vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร พร้อมฝาปิด
4. เครื่อง Evaporator (รุ่น BÜCHI; Rotavapor® R-300)
5. เครื่อง Freezer drying (รุ่น Martin Christ; Alpha 2-4 LSC basic)
6. เครื่อง Heating box หรือ Microwave digestion and extraction system
7. เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (รุ่น Agilent Technologies 1260 Infinity; Germany)
8. เครื่อง Ultrasonic water bath
9. เครื่องผสมสาร (Vortex mixer) (รุ่น G560E ยี่ห้อ Scientific Industries)
10. เครื่องวัดค่า pH (pH meter) (ยี่ห้อ Sartorius)
11. เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) (Thermo Scientific™; Heraeus Biofuge Stratos Centrifuge)
12. ชุดกรองสารละลาย (vacuum filtration)
13. บีกเกอร์ (beaker)
14. ไมโครปิเปต (micropipette)
15. หลอดแก้ว (glass tube)

สารเคมี

1. Trifluoracetic acid ($C_2HF_3O_2$) (ยี่ห้อ Acros; Belgium)
2. Formic acid (CH_2O_2) (ยี่ห้อ RCI Labscan)
3. Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) (ยี่ห้อ Kemaus; Australia)
4. Phosphoric acid (H_3PO_4) (ยี่ห้อ RCI Labscan)
5. Acetonitrile (C_2H_3N) (ยี่ห้อ RCI Labscan)
6. Methanol (HPLC grade) (ยี่ห้อ RCI Labscan)
7. Allopurinol CRS (European Pharmacopoeia Reference Standard)
8. สารละลายมาตรฐานพิวรีน และอนุพันธ์พิวรีน (Sigma-Aldrich; China)
   - 8.1 อะดีนีน (adenine); $C_5H_5N_5$, MW. 135.13 g/mol, assay: 99%
   - 8.2 กวานีน (guanine); $C_5H_5N_5O$, MW. 151.13 g/mol, assay: 98%
   - 8.3 ไฮโปแซนทีน (hypoxanthine); $C_5H_4N_4O$, MW. 136.11 g/mol, assay: 99%

8.4 แซนทีน (xanthine); $C_5H_4N_4O_2$, MW. 152.11 g/mol, assay: 99%

8.5 กรดยูริก (uric acid); $C_5H_4N_4O_3$, MW. 168.11 g/mol, assay: 99%

3.1 การเตรียมสารมาตรฐานกรดยูริก ความเข้มข้น 200 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดยูริก ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ดังตารางที่ 6 จากนั้น ดูดสารละลายสารมาตรฐานกรดยูริก ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในขวด vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ใช้สำหรับเปรียบเทียบ retention time เพื่อระบุชนิด และคำนวณปริมาณกรดยูริก

ตารางที่ 6 การเตรียมสารมาตรฐานกรดยูริกที่ความเข้มข้น 200 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร

สารละลายมาตรฐาน (ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร)	มวลโมเลกุล (กรัมต่อโมล)	ปริมาณสาร (มิลลิกรัม)	ปริมาตรสุดท้าย (มิลลิตร)
กรดยูริก	168.11	3.36	10

3.2 การเตรียมตัวอย่าง

1. นำตัวอย่างมูลไปทำการระเหยแห้ง ด้วยเครื่อง freezer drying ใช้เวลาประมาณ 2-3 วัน จากนั้นบดตัวอย่างให้ละเอียด และเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

2. ชั่งตัวอย่างมูลไก่ที่บดละเอียดมา 100 มิลลิกรัม ใส่ในหลอดแก้ว เติมสารละลายผสม (trifluoracetic acid: formic acid: DI water; 5:5:1; v/v/v) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

3. เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex และนำไปย่อยด้วยเครื่อง heating box ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 40 นาที จนตัวอย่างใส

4. เมื่อครบเวลา ทิ้งสารสกัดให้เย็น และเทสารสกัดใส่ขวดก้นกลม ขนาด 100 มิลลิลิตร เพื่อกลั่นระเหยกรดออกจากตัวอย่าง ด้วยเครื่องกลั่นระเหย (evaporator) ภายใต้ความดัน 72 bar ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 rpm และทำซ้ำ 2 ครั้ง โดยการเติมน้ำปริมาตร 5 มิลลิลิตร เพื่อเจือจางกรดในตัวอย่าง

5. เจือจางกรดในตัวอย่าง ด้วยสารละลาย KH_2PO_4 ความเข้มข้น 0.02 M ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และนำไปวางในเครื่อง ultrasonic water bath เป็นเวลา 5 นาที เพื่อละลายตะกอนตัวอย่าง

6. เมื่อครบเวลา นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 20,000 rpm อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที และกรองสารละลายส่วนใสด้วย nylon syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอน ลงในขวดบรรจุสารฉีด และนำไปวิเคราะห์ความเข้มข้นกรดยูริก ด้วยเครื่อง HPLC

3.3 การเตรียมเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase); 0.02 M Potassium dihydrogen phosphate, pH 3.4

1. ชั่งสาร KH_2PO_4 จำนวน 2.72 กรัม ลงในบีกเกอร์

2. เติมน้ำกลั่น ประมาณ 800 มิลลิลิตร แล้วปรับ pH เป็น 3.4 ด้วยกรดฟอสฟอริก จากนั้น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร และกรองผ่านกระดาษกรอง nylon filter membrane ขนาด 0.45 ไมครอน

3. นำไปไล่แก๊ส ด้วยเครื่องโซนิเคเตอร์ เป็นเวลา 30 นาที

3.4 วิธีการวิเคราะห์กรดยูริก ในมูล โดย HPLC

1. ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC
2. คอลัมน์: ZORBAX SB C18 (5 µm, 4.6x250 mm)
3. Mobile phase: potassium dihydrogen phosphate 0.02 M (pH 3.4) อัตราการไหล (flow rate): 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที
4. อุณหภมิของคอลัมน์: 35-40 องศาเซลเซียส
5. ความยาวคลื่น (wavelength): 254 นาโนเมตร
6. ปริมาณการฉีด (injection): 20 ไมโครลิตร

3.5 วิธีการคำนวณกรดยูริกในมูล

การระบุพีคกรดยูริกในตัวอย่างจะใช้ค่าเวลาการออกของกรดยูริกมาตรฐาน เทียบกับค่าเวลาการออกของสารในตัวอย่าง การคำนวนความเข้มข้นของกรดยูริก คำนวณดังสมการ

$$\mathbf{Rf = As / Ns}$$

$$\mathbf{Ci = f * Ai / Rf}$$

โดย Rf คือ response factor ($nmol^{-1}$)

As คือพื้นที่ใต้กราฟของสารมาตราฐานกรดยูริก

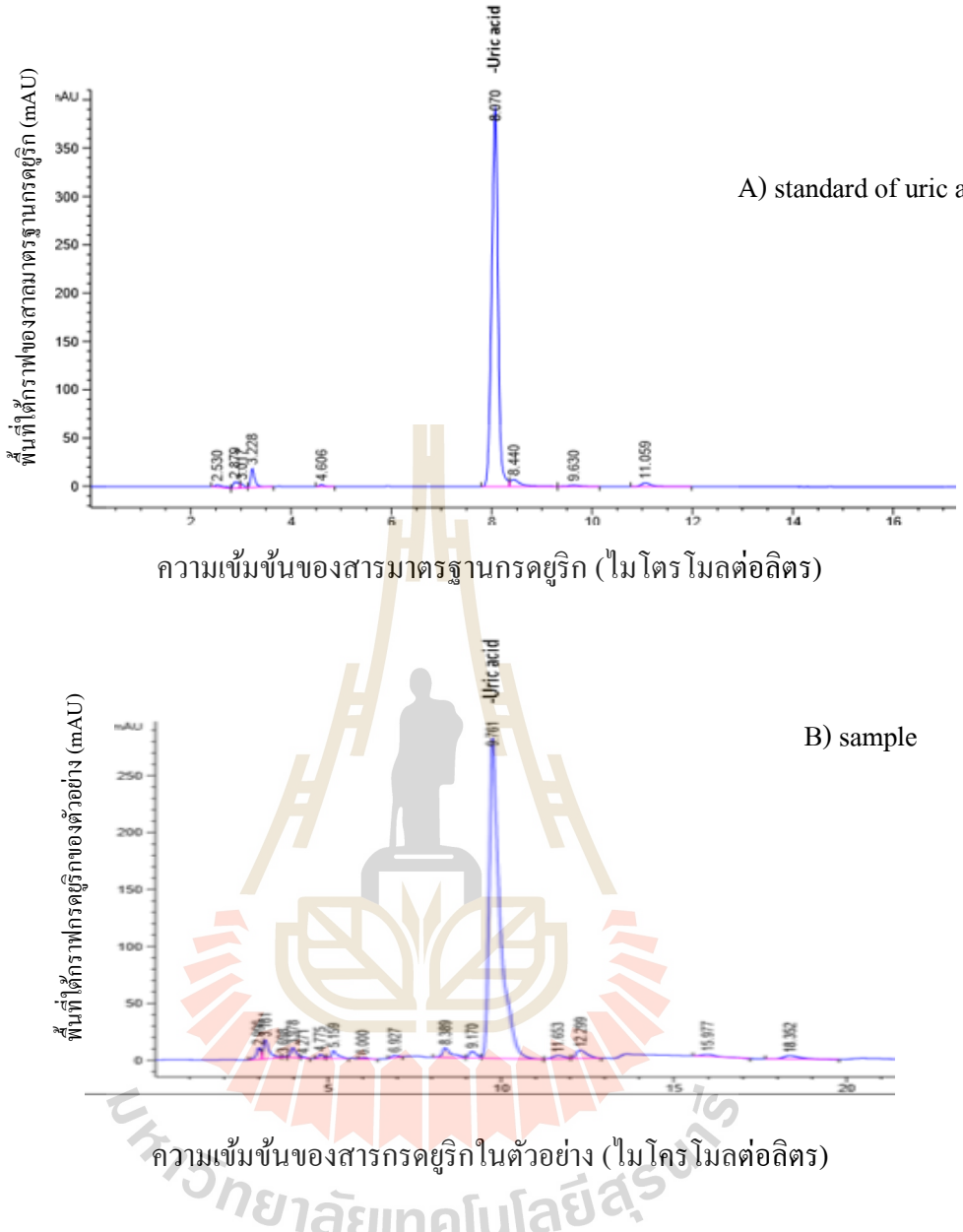
Ns คือปริมาณสารมาตราฐานกรดยูริกที่ฉีดเข้าคอลัมน์ (nmol)

Ci คือความเข้มข้นกรดยูริกในตัวอย่าง

Ai คือพื้นที่ใต้กราฟกรดยูริกในตัวอย่าง

f คือปริมาณการเจือจางตัวอย่าง (dilution factor)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 5 โครโมโตกราฟ และลำดับของ retention time ของสารมาตรฐานกรดยูริก (A) และตัวอย่างโครโมโตกราฟกรดยูริกในมูล sample (B)

4. การวิเคราะห์พิวรีน และอนุพันธ์พิวรีนในเนื้อไก่

การวิเคราะห์หาปริมาณพิวรีน อนุพันธ์พิวรีนในเนื้ออก และสะโพก โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Lou et al., (2005)

วัสดุอุปกรณ์ และสารเคมี แสดงไว้ในหัวข้อที่ 3 เรื่องการวิเคราะห์กรดยูริกในมูล

4.1 การเตรียมสารมาตรฐานพิวรีน อนุพันธ์พิวรีน และ Internal standard ในเนื้ออก และเนื้อสะโพก

เตรียมสารละลายมาตรฐาน อะดีนีน กวานีน ไฮโปแซนทีน และแซนทีน ที่ระดับความเข้มข้น 25 50 100 200 และ 300 นาโนโมลต่อมิลลิลตร สำหรับการวิเคราะห์พิวรีน อนุพันธ์พิวรีนในเนื้ออกและเนื้อสะโพก โดยใช้สารอัลโลพูรินอลเป็น internal standard ที่ความเข้มข้น 300 นาโนโมล ในปริมาณที่เท่ากันทั้งในสารมาตรฐานสารพิวรีน อนุพันธ์พิวรีน และสารตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 การเตรียมสารมาตรฐานพิวรีน อนุพันธ์พิวรีน กรดยูริก และอัลโลพูรินอลที่ความเข้มข้น stock solution เท่ากับ 2 ไมโครโมล

ความเข้มข้น (นาโนโมล)	กวานีน + แซนทีน (ไมโครลิตร)	ไฮโปแซนทีน (ไมโครลิตร)	อะดีนีน (ไมโครลิตร)	อัลโลพูรินอล (ไมโครลิตร)	น้ำกลั่น (ไมโครลิตร)
25	12.5	12.5	12.5	150	800
50	25	25	25	150	750
100	50	50	50	150	650
200	100	100	100	150	450
300	150	150	150	150	250

4.2 การเตรียมตัวอย่าง

1. นำตัวอย่างเนื้อไก่สดไปทำระเหยแห้งด้วยความเย็น (freezer drying) ใช้เวลาประมาณ 2-3วัน แล้วบดให้ละเอียด และเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

2. ชั่งตัวอย่างเนื้อไก่บดละเอียดมา 100 มิลลิกรัม ใส่ในหลอดแก้ว เติมสารผสม (trifluoracetic acid: formic acid: DI water; ที่อัตราส่วน 5:5:1; v/v/v) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

3. เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex และนำไปย่อยด้วยเครื่อง heating box ที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 40 นาที จนตัวอย่างใส

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4. เมื่อครบเวลา ทิ้งสารสกัดให้เย็น และเทสารสกัดใส่ขวดก้นกลมขนาด 100 มิลลิลิตร เพื่อนำไปกลั่นระเหยกรดออกจากตัวอย่าง ด้วยเครื่องกลั่นระเหย (evaporator) ภายใต้ความดัน 72 bar อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 rpm และทำซ้ำ 2 ครั้งด้วยการเติมน้ำ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เพื่อเจือจางกรดในตัวอย่าง

5. หลังจากเจือจางกรดในตัวอย่าง เติม KH_2PO_4 ความเข้มข้น 0.02 M ลงในตะกอนตัวอย่าง ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และนำไปวางในเครื่องอัลตร้าโซนิเคเตอร์ เป็นเวลา 5 นาที เพื่อช่วยละลายตะกอนตัวอย่าง

6. เมื่อครบเวลานำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 20,000 rpm ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที กรองสารละลายส่วนใสด้วย nylon syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอน ลงในขวดบรรจุสารฉีด และนำไปวิเคราะห์ความเข้มข้นกรดยูริกด้วยเครื่อง HPLC ต่อไป

4.3 การเตรียมเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase)

1. การเตรียมเฟสเคลื่อนที่ (A); 0.02M Potassium dihydrogen phosphate

ชั่งสาร KH_2PO_4 จำนวน 2.72 กรัม ลงในบีกเกอร์ จากนั้นเติมน้ำกลั่น ประมาณ 800 มิลลิลิตร แล้วปรับ pH เป็น 3.4 ด้วยกรดฟอสฟอริก และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง nylon filter membrane ขนาด 0.45 ไมครอน และนำไปไล่แก๊ส ฟองอากาศด้วยเครื่องโซนิเคเตอร์ เป็นเวลา 30 นาที

2. การเตรียมเฟสเคลื่อนที่ (B); Acetonitrile 15% ในสารละลายเฟสเคลื่อนที่ (A)

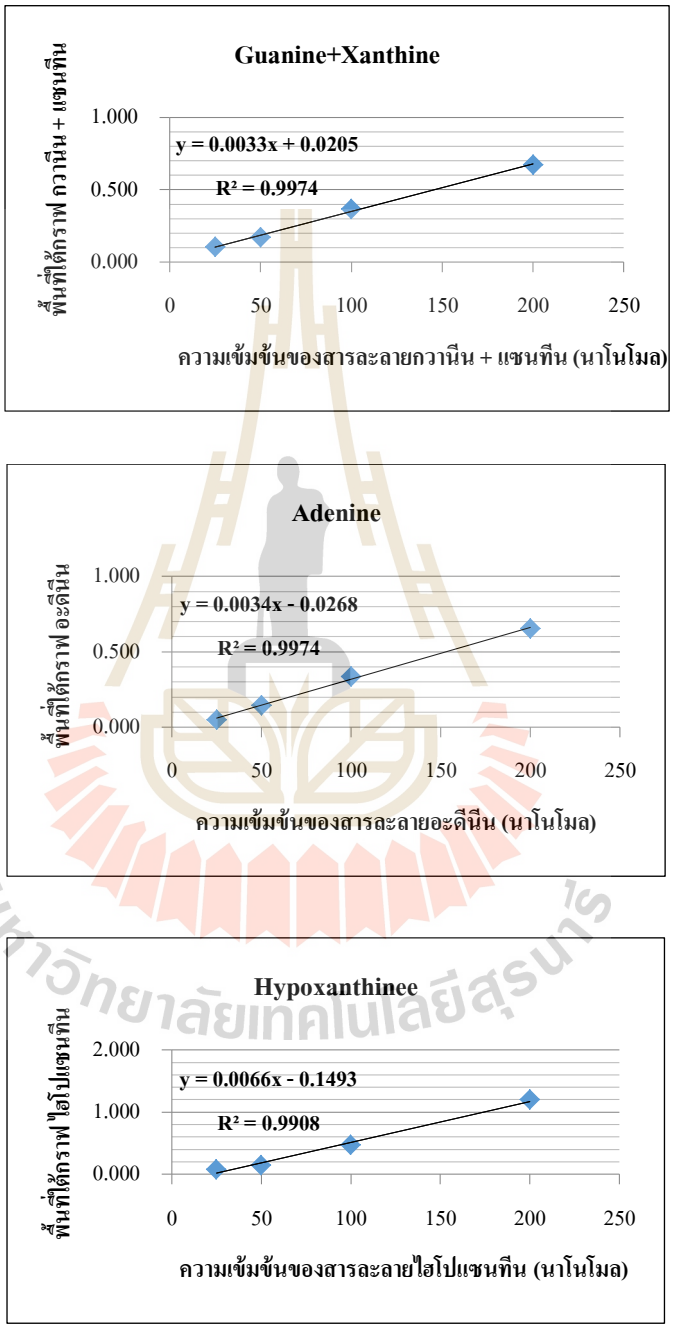
ตวง Acetonitrile 15 % มาปริมาตร 150 มิลลิลิตร และสารละลายเฟสเคลื่อนที่ (A) มาปริมาตร 800 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ จากนั้น ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย (A) ให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง filter membrane ขนาด 0.45 ไมครอน และนำไปไล่ฟองอากาศด้วยเครื่องโซนิเคเตอร์ เป็นเวลา 30 นาที

4.4 วิธีการวิเคราะห์วิเคราะห์พิวรีน และอนุพันธ์พิวรีนสำหรับเนื้อไก่ โดยเครื่อง HPLC

1. เครื่อง HPLC
2. คอลัมน์: ZORBAX SB C18 (5 µm, 4.6x250 mm)
3. Mobile phase (A); potassium dihydrogen phosphate 0.02M
4. Mobile phase (B); Acetonitrile 15% ใน mobile phase A อัตราการไหล (flow rate): 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที
5. อุณหภูมิของคอลัมน์: 35-40 องศาเซลเซียส
6. ความยาวคลื่น (wavelength): 254 นาโนเมตร
7. ปริมาณการฉีด (injection): 20 ไมโครลิตร

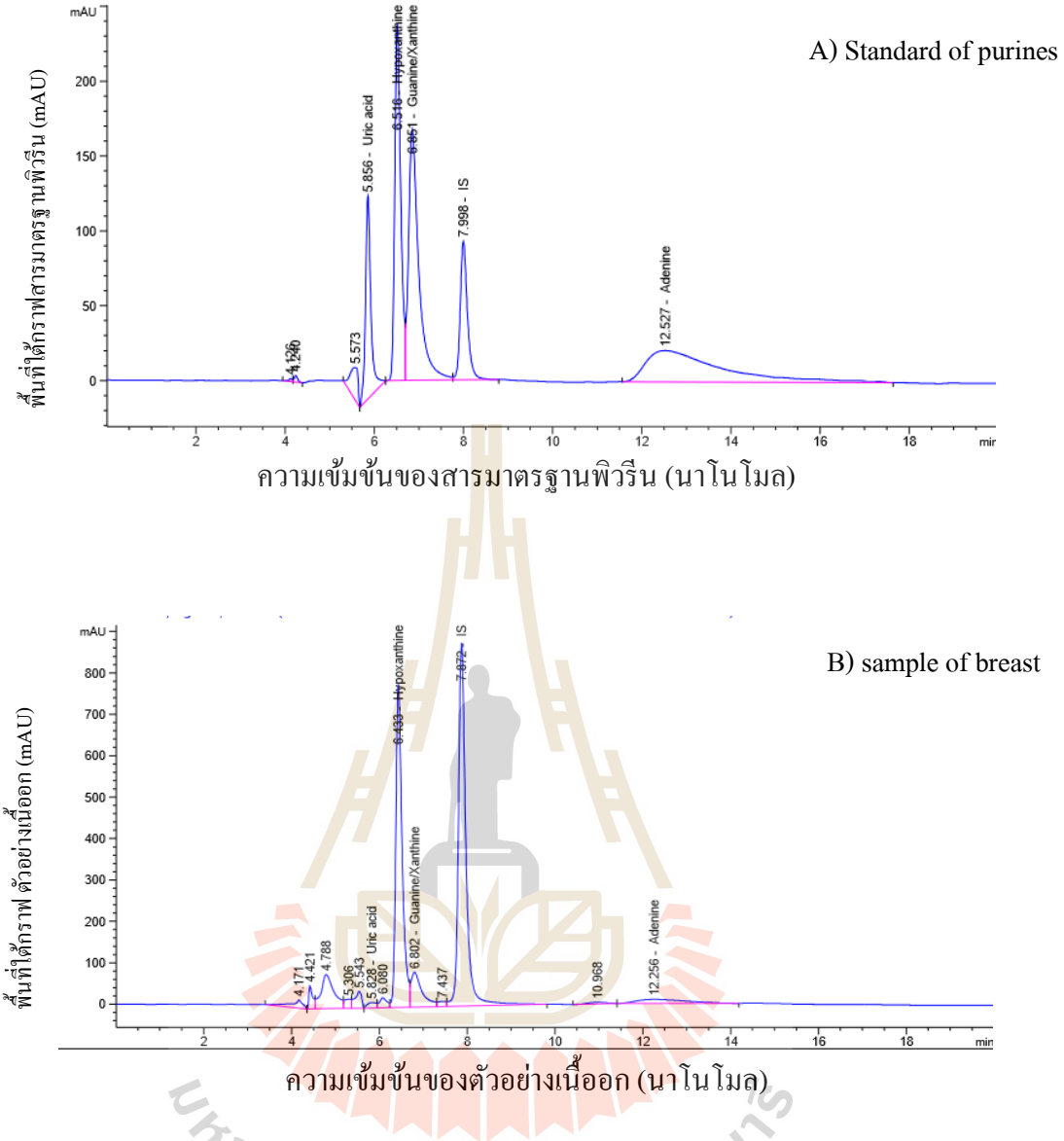
4.5 วิธีการคำนวณปริมาณพิวรีน และอนุพันธ์พิวรีนในเนื้อไก่โคราช

การคำนวณหาปริมาณพิวรีน และอนุพันธ์พิวรีน เทียบกับกราฟมาตรฐานของพิวรีน และอนุพันธ์พิวรีน ดังแสดงในภาพที่ 6

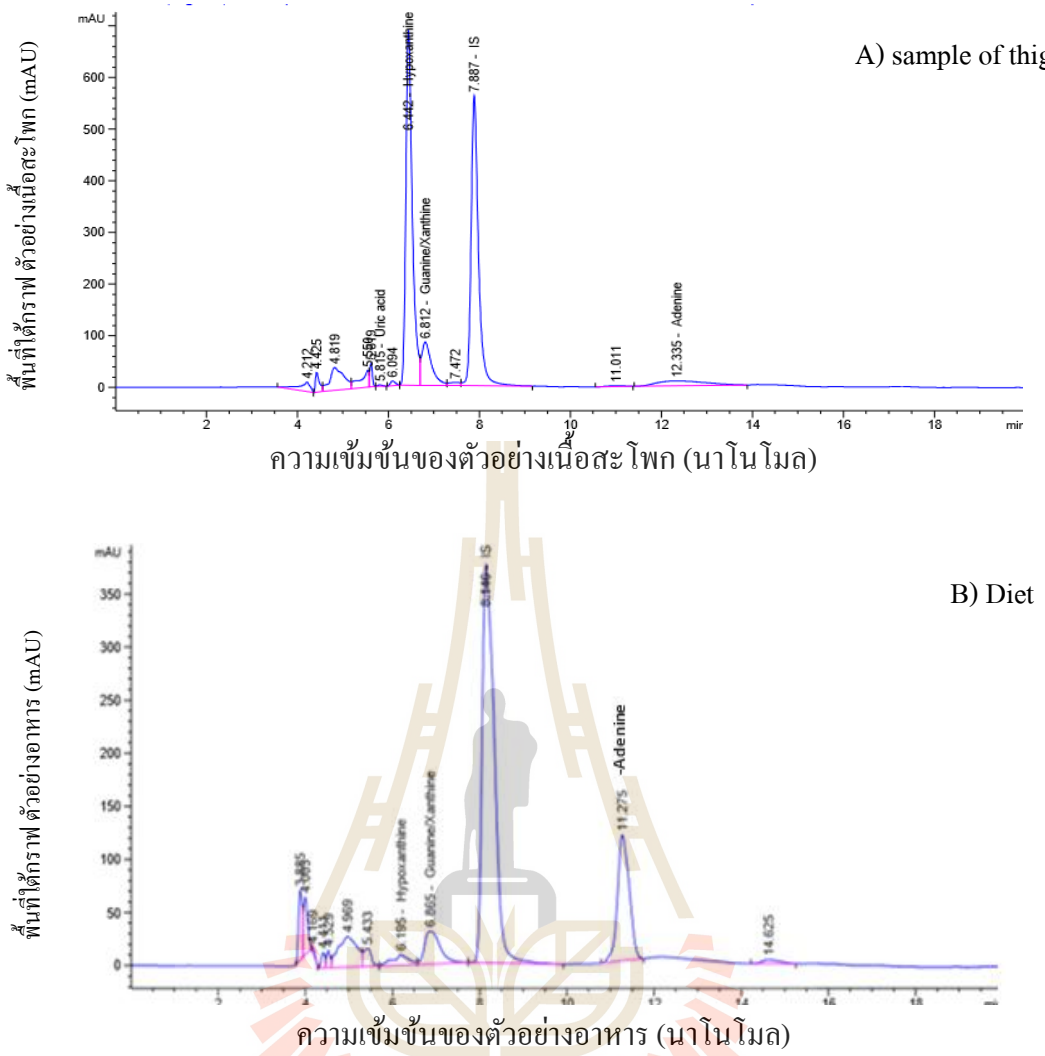


ภาพที่ 6 กราฟมาตรฐานพิวรีน และอนุพันธ์พิวรีนในเนื้ออก และเนื้อสะโพก

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 7 โครโมโตกราฟ และลำดับของ retention time ของสารมาตรฐานพิวรีน และอนุพันธ์พิวรีน (A) และตัวอย่างโครโมโตกราฟพิวรีน และอนุพันธ์พิวรีนในเนื้อออก และสะโพก ประกอบด้วย sample of breast (B)



ภาพที่ 8 ตัวอย่างโครโมโตกราฟพิวรีน และอนุพันธ์พิวรีนในเนื้ออก และสะโพก ประกอบด้วย sample of thigh (A) และ diet (B)

5. การวิเคราะห์อิโนซินมอนอฟอสเฟส (IMP) ในเนื้อไก่

การวิเคราะห์หาปริมาณ IMP ในเนื้ออก และเนื้อสะโพก ดัดแปลงจากวิธีการของ Jung et al. (2013) และ จิรวัฒน์ และคณะ (2557)

วัสดุและอุปกรณ์

1. Nylon syringe filter 0.45 micrometer
2. กระดาษกรอง (membrane filters) 0.45 ไมครอน
3. ขวด vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร พร้อมฝาปิด
4. ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask)

5. เครื่อง Homogenizer (รุ่น IKA Ultra-turrax T25 digital)
6. เครื่องผสมสาร (Vortex mixer) (รุ่น G560E ยี่ห้อ Scientific Industries)
7. เครื่องวัดค่า pH (pH meter) (ยี่ห้อ Sartorius)
8. เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) (รุ่น Thermo Scientific™; Heraeus Biofuge Stratos Centrifuge)
9. เครื่องอัลตร้าโซนิเคเตอร์ (ultrasonic water bath)
10. ชุดกรองสารละลาย (vacuum filtration)
11. บีกเกอร์ (beaker)
12. ไมโครปิเปต (micropipette)
13. เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (รุ่น Agilent Technologies 1260 Infinity; Germany)

สารเคมี

1. สารมาตรฐานอิโนซินมอนอฟอสเฟส ($C_{10}H_{13}N_4O_8P$) (Sigma-Aldrich; China)
2. Potassium chloride (KCl) (ยี่ห้อ Kemaus; Australia)
3. Potassium hydroxide (KOH) (ยี่ห้อ Kemaus; Australia)
4. Methanol (HPLC grade) (ยี่ห้อ RCI Labscan)
5. Acetonitrile (C_2H_3N) (ยี่ห้อ RCI Labscan)
6. Perchloric acid ($HClO_4$) ((ยี่ห้อ RCI Labscan)
7. Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) (ยี่ห้อ Kemaus; Australia)
8. Potassium phosphate dibasic (K_2HPO_4) (ยี่ห้อ Kemaus; Australia)

การเตรียมสารละลาย

1. Perchloric acid 7.5%

ตวง Perchloric acid 70% ปริมาตร 107.14 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส

2 0.6 M Neutralizing buffer (pH 7.6)

ชั่งสาร KH_2PO_4 มา 20.41 กรัม และชั่ง K_2HPO_4 มา 26.13 กรัม ละลายในกลั่น 220 มิลลิลิตร ปรับ pH เป็น 7.6 ด้วย KOH 50% แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 250 มิลลิลิตร เก็บไว้ในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส

5.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน IMP

1. ทำการเตรียม stock solution ของสารละลายมาตรฐาน IMP ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลต่อลิตร โดยชั่งสารมาตรฐาน IMP มา 19.60 มิลลิกรัม ลงในบีกเกอร์ และละลายด้วยน้ำกลั่น 20

มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 25 มิลลิลิตร แบ่งเก็บสารละลายมาตรฐานลงในหลอดเก็บตัวอย่าง แล้วเก็บที่ -20 องศาเซลเซียส

2. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน สำหรับพร้อมใช้งาน (working standard) โดยดูดสารละลายมาตรฐาน IMP จาก stock solution ลงในขวดปรับปริมาตร จำนวน 5 ชุด ดังแสดงในตารางที่ 9 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 5,000 ไมโครลิตร (5 มิลลิลิตร) จากนั้น กรองสารละลายมาตรฐาน ด้วย nylon syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอน ใส่ในขวด vial แล้วปิดฝา สำหรับวิเคราะห์ HPLC ต่อไป

ตารางที่ 9 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน IMP ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ปริมาตรสารละลายมาตรฐาน	ชุด 1	ชุด 2	ชุด 3	ชุด 4	ชุด 5
IMP (µl)	75	125	250	500	750
ปริมาตรสุดท้าย (µl)	5,000	5,000	5,000	5,000	5,000

5.2 การเตรียมตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม (ตัวอย่างบดเป็นเนื้อเดียวกัน) ใส่ในหลอดพลาสติกขนาด 50 มิลลิลิตร

2. เติมสารละลาย perchloric acid 7.5% (แช่เย็น (ปริมาตร 30 มิลลิลิตร

3. นำตัวอย่างไปปั่นผสม ด้วยเครื่อง homogenized เป็นเวลา 30 วินาที จากนั้นเติมสารละลาย perchloric acid 7.5% (แช่เย็น) อีกปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วผสมให้สารตัวอย่างเข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer

4. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 2,000 x g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

5. เทส่วนใสผ่านกระดาษกรอง Whatman no. 1 ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร ขนาด 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรให้ครบ 50 มิลลิลิตร ด้วยสาระลาย perchloric acid 7.5% (แช่เย็น)

6. แบ่งเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และเติม neutralizing buffer 1:1 จะเกิดตะกอนสีขาว (*ถ้าเติมต้องใช้ทันที)

7. กรองสารละลายด้วย nylon syringe filter ขนาด 0.45 ไมครอน ใส่ในขวด vial แล้วปิดฝา สำหรับวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ต่อไป

5.3 การเตรียมเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase);

1. การเตรียมเฟสเคลื่อนที่ (A); 150 mM KH_2PO_4 + 150 mM KCl; pH 6.0; (A)

โดยการชั่งสาร KH_2PO_4 20.41 กรัม และชั่งสาร KCl 11.18 กรัม ลงในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่น ประมาณ 800 มิลลิลิตร แล้วปรับ pH 6.0 และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000

มิลลิลิตร แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง nylon filter membrane ขนาด 0.45 ไมครอน และนำไปไล่แก๊ส ฟองอากาศด้วยเครื่องโซนิเคเตอร์ เป็นเวลา 30 นาที

2. การเตรียมเฟสเคลื่อนที่ (B); Acetronitrile 20% ในสารละลายเฟสเคลื่อนที่ (A)

ใช้ Acetronitrile ความเข้มข้น 20% ปริมาตร 200 มิลลิลิตร และเติมสารละลายเคลื่อนที่ (A) 800 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย (A) ให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง filter membrane 0.45 ไมครอน และนำไปไล่ฟองอากาศ ด้วยเครื่องโซนิเคเตอร์เป็นเวลา 30 นาที

5.4 วิธีการวิเคราะห์อิโนซินมอนอฟอสเฟส โดย HPLC

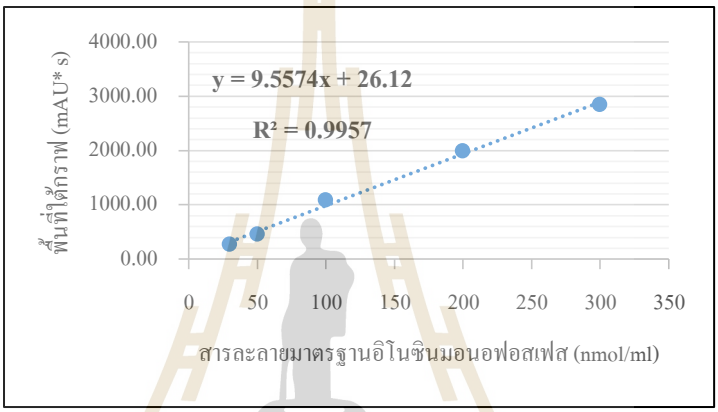
1. คอลัมน์: Hypersil ODS C_{18} (5µm ,250 x 4.0 mm)
2. Mobile phase
   - Mobile phase (A); 150 mM KH_2PO_4 + 150 mM KCl
   - Mobile phase (B); Acetonitrile 20% ใน mobile phase A
3. อัตราการไหล (flow rate): 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที
4. อุณหภูมิของคอลัมน์: 25 องศาเซลเซียส
5. ความยาวคลื่น (wavelength): 254 นาโนเมตร
6. อัตราการฉีด (injection): 10 ไมโครลิตร
7. Post time: 10 นาที
8. ระยะเวลา (running time): 30-45 นาที โดยใช้เวลาในการแยกสารทั้งหมด ดังแสดงในตารางที่ 10 และแสดงปริมาตรสารละลายมาตรฐานอิโนซินมอนอฟอสเฟสในตารางที่ 11

ตารางที่ 10 แสดงความเข้มข้นของเฟสเคลื่อนที่ (B) ตามเวลาที่เปลี่ยนแปลงไป

เวลาที่ 0-5 นาที	เพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย B เป็น 3%
เวลาที่ 5-10 นาที	เพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย B เป็น 9%
เวลาที่ 10-15 นาที	เพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย B เป็น 20%
เวลาที่ 15-20 นาที	เพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย B เป็น 100%
เวลาที่ 25-30 นาที	คงระดับความเข้มข้นของสารละลาย B ที่ 100%

ตารางที่ 11 แสดงปริมาตรสารละลายมาตรฐานอิโนซินมอนอฟอสเฟส (นาโนโมลต่อมิลลิลิตร)

สารละลายมาตรฐานอิโนซินมอนอฟอสเฟส (IMP); nmol/ml	**พื้นที่ใต้กราฟ (mAU* s)**
30	263.70
50	456.90
100	1081.30
200	1989.10
300	2838.60

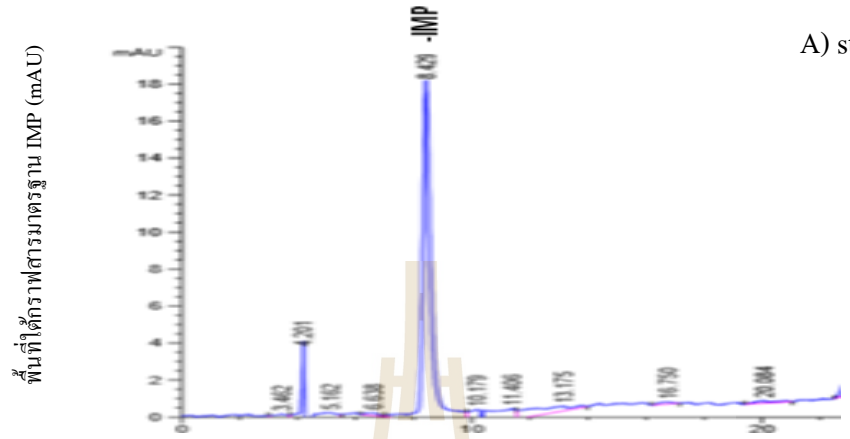


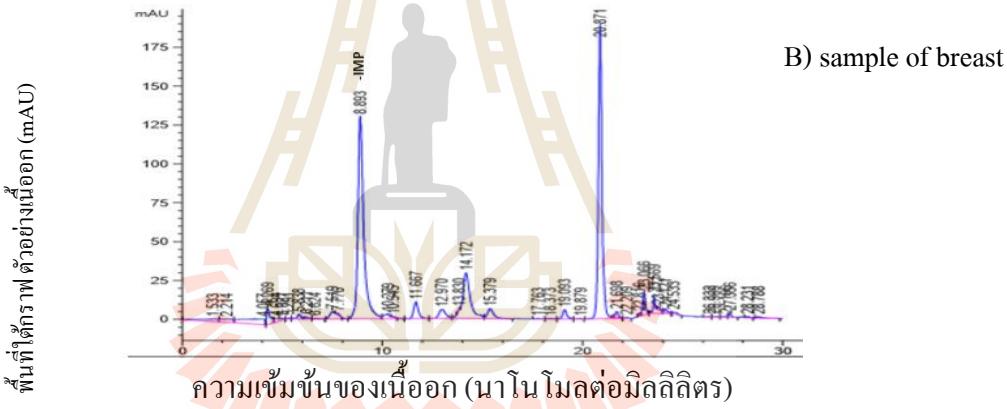
ภาพที่ 9 กราฟมาตรสารละลายมาตรฐานอิโนซินมอนอฟอสเฟส (IMP) ในเนื้อออกและสะโพก

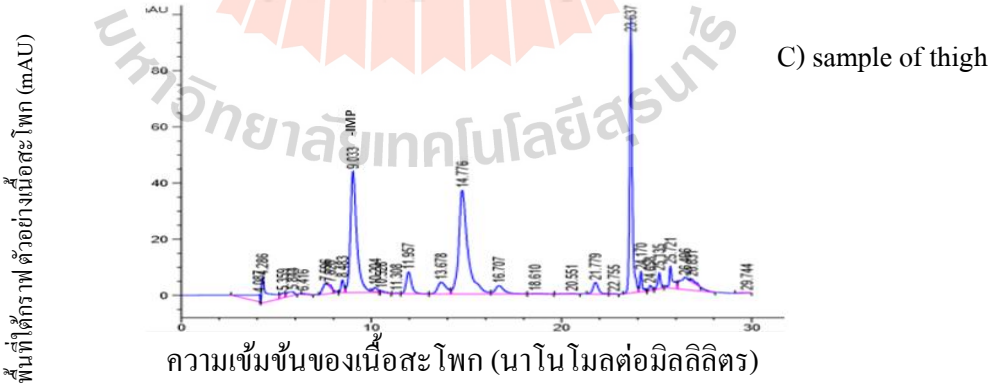
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

5.5 วิธีการคำนวนอิโนซินมอนอฟอสเฟสในเนื้อไก่

การหาความเข้มข้น โดยการอ่านค่าความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน







มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาพที่ 10 โครโมโตกราฟ และลำดับของ retention time ของสารมาตรฐาน IMP (A) และตัวอย่างโครโมโตกราฟ IMP ในเนื้ออก และสะโพก ประกอบด้วย sample of breast (B) และ sample of thigh (C)

6. การวิเคราะห์ serum urea nitrogen, (SUN)

การวิเคราะห์ serum urea nitrogen ดัดแปลงตามวิธีของ Searcy et al, (1967) และ Fawcett and Scoot, (1960)

วัสดุและอุปกรณ์

1. ไมโครปิเปต (micropipette)
2. ถาดหลุม (96 well plate)
3. เครื่อง microplate reader (ยี่ห้อ Thermo Scientific; Multiskan GO)

สารเคมี

น้ำยาสำเร็จรูปของบริษัท Erba Mannheim (UREA) โดยชุด Kit ประกอบด้วย Reagent R1 และ R2 และ Standard R3

การเตรียม working reagent โดย ผสม Reagent R1 และ R2 สัดส่วน 4:1 ตามลำดับ

1. ดูดละลายต่างๆ ใส่ลงไปใน ถาดหลุม ตามตารางที่ 12
2. จากนั้น นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร โดยวัดครั้งแรกเป็นเวลา 30 วินาที และครั้งที่ 2 เป็นเวลา 60 วินาที โดยใช้ Blank ปรับเป็นเวลาที่ 0 วัดค่าการดูดกลืนแสง

ตารางที่ 12 การเตรียมสารละลายสำหรับทดสอบตัวอย่าง

สารที่เติม	Reagent blank (ml)	Standard (ml)	Sample (ml)
Working reagent	1.0000	1.0000	1.0000
Sample	-	-	1.0000
Standard (Cal.)	-	0.010	-
Distilled water	0.010	-	-

ข้อควรระวัง : เนื่องจากสารมีความไวแสง ดังนั้นควรทำในที่มืด หรือแสงสว่างน้อย

การคำนวณจากสูตร $\Delta A_{sample} = (\Delta A_2 - \Delta A_1)/\text{min}$

$$\text{Urae (mg/dl)} = \frac{\Delta \text{ Asample} - \Delta \text{ Ablank} \times C_{cal}}{\Delta \text{ Astd.} - \Delta \text{ Ablank}}$$

C_{cal} คือ ค่าความเข้มข้นของ Standard (ดูข้างขวด)

หมายเหตุ : การเปลี่ยนหน่วย (Unit) mg/dl x 0.1665 = mmol/l; Urea (mg/dl) x 0.467 =BUN (mg/dl); BUN (mg/dl) x 2.14 = Urea (mg/dl)

ประวัติผู้เขียน

นางสาวศิริพร ชัยสิทธิ์ เกิดวันที่ 19 กันยายน พ.ศ. 2536 ที่จังหวัดนครราชสีมา สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาจากโรงเรียนห้วยแถลงพิทยาคม อำเภอห้วยแถลง จังหวัดนครราชสีมา และเข้าศึกษาปริญญาตรีในสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาตรบัณฑิต เมื่อ พ.ศ. 2558 หลังจากนั้นในปีการศึกษา 2559 เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโท สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี