ผลของเปลือกกุ้งป่นต่อสมรรถนะการผลิต การเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์และการตอบสนองภูมิคุ้มกันของไก่เนื้อ

นางสาวจรณี จิตสัจจพงศ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ปีการศึกษา 2552

THE EFFECTS OF SHRIMP SHELL MEAL ON PRODUCTION PERFORMANCE, MICROBIAL POPULATION CHANGES AND IMMUNE RESPONSE OF BROILERS

Charanee Chitsatchapong

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

Suranaree University of Technology

Academic Year 2009

ผลของเปลือกกุ้งป่นต่อสมรรถนะการผลิต การเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์และการตอบสนองภูมิคุ้มกันของไก่เนื้อ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

_____

(รศ. ดร.พงษ์ชาญ ณ ลำปาง)
ประธานกรรมการ

_____

(อ. ดร.วิทธวัช โมฬี)
กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์)

_____

(อ. ดร.สุทิศา เข็มผะกา)
กรรมการ

_____

(รศ. ดร.นวลจันทร์ พารักษา)
กรรมการ

_____

(ศ. ดร.ชูกิจ ลิมปีจำนงค์)
รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ

_____

(ผศ. ดร.สุเวทย์ นิงสานนท์)
คณบดีสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

จรณี จิตสัจจพงศ์ : ผลของเปลือกกุ้งป่นต่อสมรรถนะการผลิต การเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ และการตอบสนองภูมิคุ้มกันของไก่เนื้อ (THE EFFECTS OF SHRIMP SHELL MEAL ON PRODUCTION PERFORMANCE, MICROBIAL POPULATION CHANGES AND IMMUNE RESPONSE OF BROILERS) อาจารย์ที่ปรึกษา : อาจารย์ ดร.วิทธวัช โมพี, 91 หน้า.

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการใช้เปลือกกุ้งป่นเป็นแหล่งของสารพรีไบโอติก และวัตถุดิบแหล่งโปรตีนในอาหารไก่เนื้อ โดยการศึกษาแบ่งออกเป็น 2 การทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของไคตินที่เป็นองค์ประกอบในเปลือกกุ้งป่นเปรียบเทียบกับไคตินบริสุทธิ์ต่อคุณสมบัติในการเป็นสารพรีไบโอติก การย่อยได้ของโภชนะ และการตอบสนองภูมิคุ้มกันของไก่เนื้อ โดยใช้ไก่เนื้อเพศผู้อายุ 8 วัน จำนวน 54 ตัว เลี้ยงบนกรงเดี่ยว แบ่งออกเป็น 9 กลุ่ม ๆ ละ 6 ซ้ำ ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ทำการสุ่มไก่แต่ละกลุ่มให้ได้รับอาหารทดลองที่มีเปลือกกุ้งป่นที่ระดับ 0, 5, 10, 15 และ 20% และอาหารทดลองที่มีไคตินบริสุทธิ์ที่ระดับ 1.07, 2.26, 3.34 และ 4.53% ซึ่งเท่ากับระดับไคตินที่มีอยู่ในอาหารที่ใช้เปลือกกุ้งป่น 5, 10, 15 และ 20% ตามลำดับ ให้อาหารและน้ำอย่างเต็มที่ตลอดระยะการทดลอง จากการศึกษาพบว่าทั้งไคตินจากเปลือกกุ้งและไคตินบริสุทธิ์ ไม่ส่งผลกระทบต่อการย่อยได้ของวัตถุแห้ง เถ้า และสารอินทรีย์ การผลิตกรดไขมันระเหยได้ชนิดกรดอะซิติก และกรดโพรพิโอนิก ค่าทางโลหิตวิทยา และการตอบสนองภูมิคุ้มกัน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P>0.05$) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าไคตินจากเปลือกกุ้งมีผลในการเพิ่มกรดบิวทีริก ลดยูเรียไนโตรเจนในเลือด ลดจุลินทรีย์ให้โทษชนิด *Escherichia co*li และ *Salmonella* spp. ($P<0.05$) และไม่ส่งผลกระทบต่อการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P>0.05$)

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของเปลือกกุ้งป่นในการใช้เป็นวัตถุดิบอาหารแหล่งโปรตีน ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต คุณภาพซาก และการตอบสนองภูมิคุ้มกันของไก่เนื้อ โดยใช้ไก่เนื้อเพศผู้อายุ 1 วัน จำนวน 400 ตัว แบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ๆ ละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 20 ตัว ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ทำการสุ่มไก่แต่ละกลุ่มให้ได้รับอาหารทดลองที่มีเปลือกกุ้งป่นที่ระดับ 0, 5, 10, 15 และ 20% ตามลำดับ ให้อาหารและน้ำอย่างเต็มที่ตลอดระยะการทดลอง จากการศึกษาพบว่าการเสริมเปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อสามารถใช้ได้ถึงระดับ 15% โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต ส่วนประกอบซาก สีของเนื้อ จำนวนประชากรจุลินทรีย์ การผลิตแอมโมเนีย และกรดไขมันระเหยได้ ($P>0.05$) นอกจากนั้นยังสามารถลดปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือด เพิ่มปริมาณไลโซไซม์ และเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนซัยต์ในไก่เนื้อที่อายุ 21 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P<0.05$)

จากการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่า เปลือกกุ้งป่นสามารถใช้เป็นวัตถุดิบแหล่งโปรตีนในอาหารไก่เนื้อ สามารถใช้ได้ถึง 15% ในสูตรอาหาร นอกจากนั้นการใช้เปลือกกุ้งป่นในระดับดังกล่าวยังส่งผลในแง่ของการเป็นสารพรีไบโอติกในอาหารไก่เนื้อด้วย

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ ลายมือชื่อนักศึกษา _____

ปีการศึกษา 2552 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม_____

CHARANEE CHITSATCHAPONG : THE EFFECTS OF SHRIMP SHELL MEAL ON PRODUCTION PERFORMANCE, MICROBIAL POPULATION CHANGES AND IMMUNE RESPONSE OF BROILERS. THESIS ADVISOR : WITTAWAT MOLEE, Ph.D., 91 PP.

SHRIMP SHELL MEAL/BROILERS/MICROBIAL/VFA/IMMUNE/AMMONIA/ MEAT COLOR/PRODUCTION PERFORMANCE

The objective of this research was to determine the use of shrimp shell meal as a prebiotic and protein source in broiler diets. This study was divided into 2 experiments.

The first experiment was conducted to investigate the effect of chitin constituent in shrimp shell meal as a prebiotic compared with purified chitin on nutrient digestibility and immune response of broilers. A total of 54 eight-day-old male broilers were placed in individual cages and randomly allocated to 9 dietary treatments with 6 replicates in Completely Randomized Design. In shrimp shell meal diets, shrimp shell meal was added at 0, 5, 10, 15 and 20%. In purified chitin diets, commercial chitin was added at 1.07, 2.26, 3.34 and 4.53% of diet to match the same levels of chitin as in 5, 10, 15 and 20% shrimp meal diets, respectively. Feed and water were provided *ad libitum* throughout the experimental period. The results showed that both chitin sources had no significant effects on dry matter, ash and organic matter digestibilities, volatile fatty acids production (acetic acid and propionic acid), hematological values and immune response compared with the control diet ($P>0.05$). However, chitin in shrimp shell meal showed the greater enhancement of production butyric acid, a decrease in

Escherichia coli and *Salmonella spp.,* (P<0.05) and showed no effects on protein utilization compared with the control diet (P>0.05).

The second experiment was conducted to investigate the effects of substitution of shrimp shell meal as protein source on growth performance, carcass quality, and immune response of broilers. A total of 400 one-day-old male broilers were randomly allocated to 5 dietary treatments with 4 replicates of 20 chicks each in Completely Randomized Design. The experimental diets consisted of shrimp shell meal was added at 0, 5, 10, 15 and 20% in diets. All broilers were given access to feed and water *ad libitum* throughout the study. The results showed that diets supplemented with 15% of shrimp shell meal had no significant effects on growth performance, carcass composition, meat colors, microbial population, ammonia production and volatile fatty acid production (P>0.05). Moreover, blood urea nitrogen was decreased, whereas lysozyme content and monocyte were increased as increasing of dietary shrimp shell meal at 21-day-old broilers compared with the control diet (P<0.05).

In conclusion, it is suggested that shrimp shell meal can be used as a protein source in broiler diets up to 15% in the diet. Moreover, this level of shrimp shell meal can be used as a prebiotic in broiler diets.

School of Animal Production Technology Student's Signature_____

Academic Year 2009 Advisor's Signature _____

Co-advisor's Signature _____

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จได้ด้วยดี ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.วิทธวัช โมพี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้คำปรึกษาและแนวคิดที่เป็นประโยชน์ทั้งในด้านวิชาการและด้านการดำเนินการวิจัย ตลอดจนคำแนะนำในการเขียน ตรวจแก้วิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.สุทิศา เข็มผะกา อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาและคำแนะนำต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งในด้านวิชาการและด้านการดำเนินการวิจัย การเขียน ตรวจแก้วิทยานิพนธ์ และสนับสนุนค่าใช้จ่ายต่าง ๆ ในการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.นวลจันทร์ พารักษา ที่กรุณาให้คำปรึกษาและคำแนะนำต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งในด้านวิชาการ ตลอดจนคำแนะนำในการเขียน ตรวจแก้วิทยานิพนธ์ และขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชา

ขอขอบคุณฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ดำเนินงานวิจัย ตลอดจนบุคลากรฟาร์มมหาวิทยาลัยที่ช่วยเหลือการทำวิจัยตลอดมา

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่บุคคลากรประจำอาคารเครื่องมือ 1 และ 3 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ให้ความช่วยเหลือในการใช้อุปกรณ์และเครื่องมือ ในการทำวิจัย ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่สนับสนุนทุนในการทำวิจัย

ขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ที่ร่วมเรียนระดับบัณฑิตศึกษาทุกคน ตลอดจนน้อง ๆ ที่เรียนระดับปริญญาตรีสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ ที่ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจอย่างดีเสมอมา

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อมนัส และคุณแม่หฤทัย ตลอดจนญาติทุกท่าน ที่ให้การอบรมเลี้ยงดูส่งเสริมการศึกษาเป็นอย่างดีมาโดยตลอดจนสำเร็จการศึกษา

จรณี จิตสัจจพงศ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย) ..... ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ) ..... ค
กิตติกรรมประกาศ ..... จ
สารบัญ ..... ฉ
สารบัญตาราง ..... ฎ
สารบัญภาพ ..... ฐ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ ..... ฑ

บทที่

1 บทนำ 1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย 1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2
1.3 สมมุติฐานของการวิจัย 3
1.4 ขอบเขตของการวิจัย 3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3
1.6 รายการอ้างอิง 4
2 วรรณกรรมและเอกสารที่เกี่ยวข้อง 6
2.1 สถานการณ์การผลิตและส่งออกกุ้งของประเทศไทย 6
2.2 เปลือกกุ้ง (Shrimp shell) 10
2.2.1 องค์ประกอบทางโภชนะของเปลือกกุ้งป่น (Shrimp shell meal) 10
2.2.2 คุณสมบัติในการเป็นสารให้สีของเปลือกกุ้งป่น 12
2.2.3 ข้อจำกัดในการใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารสัตว์ 12
2.3 ผลการใช้เปลือกกุ้งป่นในไก่เนื้อ 14
2.3.1 การใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต 14
2.3.2 การใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อต่อการย่อยได้ของโภชนะ 15
2.3.3 การใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อต่อคุณภาพซาก 17

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.3.4 การใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อต่อสีของเนื้อ 17
2.4 ไคติน (Chitin) 19
2.4.1 แหล่งของไคติน 19
2.4.2 กระบวนการผลิตไคติน และไคโตซาน 20
2.5 การนำไคติน และไคโตซานไปใช้ประโยชน์ 22
2.6 คุณสมบัติของไคตินในการเป็นสารพรีไบโอติก และสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน 23
2.6.1 คุณสมบัติในการเป็นสารพรีไบโอติก 23
2.6.2 คุณสมบัติในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน (Immune) 24
2.7 ข้อจำกัดของไคติน 25
2.8 การศึกษาผลการใช้ไคตินในไก่เนื้อ 25
2.8.1 การใช้ไคตินในอาหารไก่เนื้อต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต 25
2.8.2 การใช้ไคตินในอาหารไก่เนื้อต่อการย่อยได้ของโภชนะ 27
2.8.3 การใช้ไคตินในอาหารไก่เนื้อต่อประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม 29
2.9 รายการอ้างอิง 30
3 การศึกษาผลของไคตินในเปลือกกุ้งเปรียบเทียบกับไคตินบริสุทธิ์ต่อคุณสมบัติในการเป็นสารพรีไบโอติกในไก่เนื้อ 34
3.1 คำนำ 34
3.2 วัตถุประสงค์ 35
3.3 อุปกรณ์และวิธีการ 35
3.3.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง 35
3.3.2 การเตรียมเปลือกกุ้งป่น 35
3.3.3 การเตรียมอาหารทดลอง 35
3.4 การเก็บตัวอย่าง 39
3.4.1 การศึกษาการย่อยได้ (Digestibility) 39

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.4.2 การศึกษาประชากรจุลินทรีย์ บริเวณลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม 39
3.4.3 การศึกษาปริมาณกรดไขมันระเหยได้ และแอมโนเนียบริเวณลำไส้เล็ก ลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม และมูล 40
3.4.4 การศึกษาด้านภูมิคุ้มกัน 40
3.4.4.1 ปริมาณไลโซไซม์ในซีรัม 40
3.4.4.2 ปริมาณอิมมูโนโกลบูลิน 40
3.4.4.3 วิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยา 40
3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล 41
3.6 สถานที่ทำการทดลอง 41
3.7 ระยะเวลาทำการทดลอง 41
3.8 ผลการทดลอง และการอภิปรายผล 41
3.8.1 ผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ต่อการย่อยได้ของโภชนะในไก่เนื้อ 41
3.8.2 ผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ต่อประชากรจุลินทรีย์ 43
3.8.3 ผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ต่อปริมาณกรดไขมันระเหยได้ 45
3.8.4 ผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ต่อปริมาณแอมโมเนีย 48
3.8.5 ผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ต่อปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือด และค่าทางโลหิตวิทยา 50
3.8.6 ผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ต่อปริมาณไลโซไซม์และอิมมูโนโกลบูลิน 52
3.9 สรุปผลการทดลอง 53

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.10 รายการอ้างอิง 53

4 การศึกษาผลของเปลือกกุ้งป่น เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบแหล่งโปรตีนต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และคุณภาพซากในไก่เนื้อ 56

4.1 คำนำ 56

4.2 วัตถุประสงค์ 57

4.3 อุปกรณ์และวิธีการ 57

4.3.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง 57

4.3.2 การเตรียมเปลือกกุ้งป่น 57

4.3.3 การเตรียมอาหารทดลอง 57

4.4 การเก็บตัวอย่าง 59

4.4.1 การศึกษาสมรรถนะการเจริญเติบโต (Growth performance) 59

4.4.2 การศึกษาด้านคุณภาพซาก (Carcass quality) 59

4.4.3 การศึกษาประชากรจุลินทรีย์ ใน Digesta บริเวณลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม 59

4.4.4 การศึกษาปริมาณกรดไขมันระเหยได้ และแอมโนเนีย ใน Digesta บริเวณลำไส้เล็ก ลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม และมูล 59

4.4.5 การศึกษาด้านภูมิคุ้มกัน 60

4.4.5.1 ปริมาณไลโซไซม์ในซีรัม 60

4.4.5.2 ปริมาณอิมมูโนโกลบูลิน 60

4.4.5.3 วิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยา 60

4.5 การวิเคราะห์ข้อมูล 60

4.6 สถานที่ทำการทดลอง 60

4.7 ระยะเวลาทำการทดลอง 60

4.8 ผลการทดลอง และอภิปรายผล 61

4.8.1 ผลของเปลือกกุ้งป่นต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต 61

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.8.2 ผลของเปลือกกุ้งป่นต่อคุณภาพซาก ลักษณะสีเนื้อ และผิวหนัง 63
4.8.3 ผลของเปลือกกุ้งป่นต่อประชากรจุลินทรีย์ ปริมาณแอมโมเนีย และปริมาณกรดไขมันระเหยได้ 64
4.8.4 ผลของเปลือกกุ้งป่นต่อปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือด และค่าทางโลหิตวิทยา 66
4.8.5 ผลของเปลือกกุ้งป่นต่อปริมาณไลโซไซม์ และอิมมูโนโกลบูลิน 67
4.9 สรุปผลการทดลอง 69
4.10 รายการอ้างอิง 69
5 สรุปและข้อเสนอแนะ 72
5.1 สรุป 72
5.2 ข้อเสนอแนะ 72
ภาคผนวก 74
ภาคผนวก ก วิธีการดำเนินงานทางห้องปฏิบัติการ 74
ประวัติผู้เขียน 91

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 ผลผลิตกุ้งของโลกจำแนกตามประเทศผู้ผลิตรายใหญ่ ปี พ.ศ.2547-2550 6
2.2 ปริมาณผลผลิตกุ้งของไทยจากการจับจากธรรมชาติ และจากการเพาะเลี้ยง ในปี พ.ศ. 2547-2551 7
2.3 ปริมาณและรูปแบบการส่งออกผลิตภัณฑ์กุ้งของประเทศไทยปี พ.ศ.2547-2551 8
2.4 องค์ประกอบทางโภชนะของเปลือกกุ้ง (as fed basis) 11
2.5 องค์ประกอบของกรดอะมิโนในเปลือกกุ้ง และกากถั่วเหลือง 13
2.6 ผลการใช้เปลือกกุ้งป่นที่มีระดับโปรตีนแตกต่างกันในอาหารไก่เนื้อ ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต 15
2.7 ผลการใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อต่อการย่อยได้ของโภชนะ 16
2.8 ผลการใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อต่อคุณภาพซาก 17
2.9 ผลการใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อต่อสีของเนื้อ 18
2.10 แหล่งของไคติน 20
2.11 ผลการใช้ไคตินในอาหารไก่เนื้อต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต 26
2.12 ผลการใช้ไคตินในอาหารไก่เนื้อต่อการย่อยได้ของโภชนะ 28
2.13 ผลการใช้ไคตินในอาหารไก่เนื้อต่อประชากรจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร 29
3.1 องค์ประกอบทางโภชนะของเปลือกกุ้งจากการวิเคราะห์ 37
3.2 ส่วนประกอบของสูตรอาหารทดลอง 38
3.3 ผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ในอาหารต่อการย่อยได้ของโภชนะ ในไก่เนื้ออายุ 32-35 วัน 43
3.4 ผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ต่อประชากรจุลินทรีย์ใน Digesta บริเวณลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม ของไก่เนื้ออายุ 35 วัน 45
3.5 ผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ต่อปริมาณกรดไขมันระเหยได้ ในลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม ของไก่เนื้ออายุ 35 วัน 47

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

3.6 ผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ต่อปริมาณแอมโมเนียในมูล ลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม ของไก่เนื้ออายุ 8-35 วัน 49

3.7 ผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ต่อปริมาณยูเรียไนโตรเจน ในเลือด และค่าทางโลหิตวิทยาของไก่เนื้ออายุ 35 วัน 51

3.8 ผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ต่อปริมาณไลโซไซม์ และอิมมูโนโกลบูลินของไก่เนื้ออายุ 35 วัน 52

4.1 ส่วนประกอบของสูตรอาหารทดลอง 58

4.2 ผลของเปลือกกุ้งป่นในอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตในไก่เนื้ออายุ 0-42 วัน 62

4.3 ผลของเปลือกกุ้งป่นต่อคุณภาพซาก ลักษณะสีเนื้อ และผิวหนังในไก่เนื้ออายุ 42 วัน 64

4.4 ผลของเปลือกกุ้งป่นต่อประชากรจุลินทรีย์ กรดไขมันระเหยได้ และแอมโมเนีย ในลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัมของไก่เนื้ออายุ 42 วัน 65

4.5 ผลของเปลือกกุ้งป่นต่อปริมาณยูเรียไนโตรในเลือด และค่าทางโลหิตวิทยาในไก่เนื้อที่อายุ 21 และ 42 วัน 67

4.6 ผลของเปลือกกุ้งป่นต่อปริมาณไลโซไซม์ และอิมมูโนโกลบูลิน ในไก่เนื้อที่อายุ 21 และ 42 วัน 68

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 สัดส่วนการส่งออกสินค้า และผลิตภัณฑ์จากกุ้งของประเทศไทยใน ปี พ.ศ. 2550 9
2.2 โครงสร้างของไคติน และไคโตซาน 19
2.3 กระบวนการผลิตไคติน และไคโตซาน 21
2.4 กลไกการทำงานของเซลล์แมคโครฟาจในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค 24

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

AME	=	Apparent metabolizable energy
BUN	=	Blood urea nitrogen
BW gain	=	Body weight gain
C	=	Cubic trend
C-76	=	Chitin 76% deacetylated
C-82	=	Chitin 82% deacetylated
C-94	=	Chitin 94% deacetylated
CFU	=	Colony forming unit
COS	=	Chitooligosaccharide
CP	=	Crude protein
CRD	=	Completely randomized design
Cys	=	Cystine
DM	=	Dry matter
EDTA	=	Ethylene diamine tetraacetic acid
FCR	=	Feed conversion ratio
FI	=	Feed intake
FOS	=	Fructooligosaccharides
H/L ratio	=	Heterophil/Lymphocyte ratio
L	=	Linear trend
MCK agar	=	Macconkey agar
ME	=	Metabolisable energy
Met	=	Methionine
MOS	=	Mannanoligosaccharides
MRS broth	=	de Man Rogosa and Sharpe Broth
NS	=	Not significant
Q	=	Quadratic trend

Qu = Quartic trend

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

Qu	=	Quartic trend
RBC	=	Red blood cell
SEM	=	Standard error of the mean
TME	=	True metabolizable energy
VFA	=	Volatile fatty acid
WBC	=	White blood cell
XLD agar	=	Xylose lysine deoxycholate agar

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาในการทำวิจัย

ปัจจุบันอุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่เนื้อมีการขยายตัวเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เพื่อตอบสนองความต้องการบริโภคของมนุษย์ และตามจำนวนประชากรที่เพิ่มขึ้น แต่สถานการณ์ด้านวัตถุดิบอาหารสัตว์เกิดการขาดแคลน โดยเฉพาะวัตถุดิบแหล่งโปรตีน เช่น กากถั่วเหลือง และปลาป่น จึงส่งผลให้มีราคาเพิ่มขึ้น นักวิจัยและผู้ที่เกี่ยวข้องจึงได้พยายามแก้ปัญหาดังกล่าวโดยการหาวัตถุดิบอาหารชนิดอื่นที่มีศักยภาพในการนำมาใช้ทดแทนเป็นแหล่งวัตถุดิบโปรตีน เปลือกกุ้ง (Shrimp shell) เป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการส่งออกกุ้งแช่แข็งที่น่าสนใจชนิดหนึ่ง ที่มีส่วนของเศษเหลือคือ เปลือกกุ้ง และหัวกุ้ง ซึ่งหัวกุ้งเป็นส่วนที่เหลือจากการแปรรูปอยู่มากที่สุดประมาณ 34-45% ของวัตถุดิบที่ใช้ในการแปรรูป (Meyers and Rutledge, 1971; วรรณา ชูฤทธิ์ และคณะ, 2543) โดยในปี พ.ศ. 2550 ผลผลิตกุ้งของโลกมีปริมาณ 2,100,000 ตัน ซึ่งประเทศไทยผลิตได้ 530,000 ตัน เป็นอันดับ 1 ของโลก (ปรีชา กันทรากรกิติ, 2552) นอกจากนั้นประเทศไทยถือได้ว่าเป็นประเทศที่มีปริมาณการผลิตและการส่งออกกุ้งแช่แข็งรายใหญ่เป็นลำดับต้นของโลก คิดเป็น 26% ของปริมาณผลผลิตโลก (กรมการค้าภายใน สำนักงานส่งเสริมการค้าสินค้าเกษตร, 2550) โดยในปี พ.ศ. 2551 ประเทศไทยมีปริมาณการผลิตกุ้งสดแช่แข็ง 195,000 ตัน (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2552) ซึ่งจะมีเศษเหลือจากกุ้งประมาณ 160,000 ตัน จึงทำให้มีปริมาณมากในแต่ละปี อีกทั้งเปลือกกุ้งถือได้ว่าเป็นเศษเหลือที่มีคุณค่าทางโภชนะสูงโดยหัวกุ้งมีโปรตีน 56.95% (นพวรรณ ฉิ้มสังข์, นิฟารีซา เจ๊ะเล๊าะ, พรพิมล พิมลรัตน์, และ ชุติมา ตันติกิตติ, 2549) นอกจากนั้นเปลือกกุ้งยังมีสารสี Astaxanthin เป็นองค์ประกอบที่สูง ซึ่งน่าจะสามารถนำมาใช้ทดแทนแหล่งโปรตีนอื่น และช่วยปรับปรุงลักษณะสีของเนื้อได้ สอดคล้องกับ Rosenfeld et al. (1997); Islam, Hossain, Baibul, and Howlider (1994) และ Khempaka, Koh, and Karasawa (2006) รายงานว่าสามารถใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อที่ระดับ 31.6, 14.3 และ 12.0% ตามลำดับ โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ และ Khempaka, Koh, and Karasawa ยังพบว่า การใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อที่ระดับ 4-6% ส่งผลในการเพิ่มความแดง (Redness) ในเนื้อส่วนน่อง ซึ่งเป็นผลมาจากสารให้สีจำพวก Astaxanthin ที่มีอยู่ในเปลือกกุ้ง

นอกจากนั้นในเปลือกกุ้งยังมีไคตินเป็นสารประกอบอีกตัวหนึ่งที่น่าสนใจในการศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการทดสอบเพื่อใช้เป็นสารพรีไบโอติกในไก่เนื้อ และไคตินยังมีคุณสมบัติในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (Okawa, Kobayashi, Suzuki, and Suzuki, 2003) ทั้งนี้อันเนื่องมาจากมีงานวิจัยเป็นจำนวนมากที่ได้รายงานถึงบทบาทของพรีไบโอติกในการเลือกกระตุ้นการเจริญเติบโต และ การทำงานของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ซึ่งตั้งถิ่นฐานอยู่ในลำไส้ใหญ่ การพัฒนาเซลล์ของ ระบบทางเดินอาหาร การกระตุ้นภูมิคุ้มกันของเยื่อบุผนังลำไส้ และจะส่งผลให้คนและสัตว์ที่ได้รับพรีไบโอติกเป็นอาหารมีสุขภาพที่ดีขึ้น (Collins and Gibson, 1999) สอดคล้องกับรายงานของ Chen, Chang, Mau, and Yen (2002) พบว่าไคตินซึ่งเป็นส่วนประกอบในเปลือกกุ้งมีผลต่อการยับยั้ง การทำงานของจุลินทรีย์ก่อโรค และกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน แต่ผลของไคตินเมื่อใช้เสริม ในอาหารสัตว์ยังมีข้อขัดแย้งอยู่หลายประการ โดย Ramachandran, Mathew, Madhavan, and Prabhu (1987) รายงานว่าไก่เนื้อที่ได้รับอาหารที่มีองค์ประกอบของไคตินที่ระดับ 0.5% สามารถเพิ่มน้ำหนักตัวของไก่เนื้อได้ แต่มีนักวิจัยอีกหลายท่านได้รายงานว่าไคตินเป็นตัวจำกัดในการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ เนื่องจากการใช้ไคตินในระดับสูงมีการย่อยได้ต่ำเมื่อนำไปใช้เลี้ยงสัตว์ (Austin, Brine, Castle, and Zikakis, 1981; Fanimo, Mudama, Umukoro, and Oduguwa, 1996; Oduguwa, Fanimo, Olayemi, and Oteri, 2004; Khempaka, Mochizuki, Koh, and Karasawa, 2006; Khempaka, Koh, and Karasawa, 2006) อย่างไรก็ตามข้อมูลในการศึกษาผลของไคตินที่อยู่ในรูปของเปลือกกุ้งในอาหารสัตว์ในแง่ของการเป็นสารพรีไบโอติก ที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร การผลิตกรดไขมันระเหยได้ การผลิตแอมโมเนีย ค่าทางโลหิตวิทยา และการตอบสนองภูมิคุ้มกันยังไม่มีผู้ใดศึกษา

ดังนั้นการวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของไคตินในเปลือกกุ้งป่นเปรียบเทียบกับไคตินบริสุทธิ์ในแง่การเป็นสารพรีไบโอติก และโดยศึกษาผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต การย่อยได้ของโภชนะ การกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน การเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร การผลิตกรดไขมันระเหยได้ และการผลิตแอมโมเนียในไก่เนื้อ และเพื่อศึกษาผลของเปลือกกุ้งป่นในการใช้เป็นวัตถุดิบอาหารแหล่งโปรตีนต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และคุณภาพซากของไก่เนื้อ

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาผลของไคตินในเปลือกกุ้งป่นเปรียบเทียบกับไคตินบริสุทธิ์ในแง่การเป็นสารพรีไบโอติก โดยศึกษาผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต การย่อยได้ของโภชนะ การตอบสนองภูมิคุ้มกัน การเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร การผลิตกรดไขมันระเหยได้ และแอมโมเนียในไก่เนื้อ

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของเปลือกกุ้งป่นในการใช้เป็นวัตถุดิบอาหารแหล่งโปรตีนต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และคุณภาพซากของไก่เนื้อ

1.3 สมมุติฐานของงานวิจัย

1.3.1 ไคตินในเปลือกกุ้งป่นมีคุณสมบัติในการเป็นพรีไบโอติก คล้ายคลึงกับไคตินบริสุทธิ์ ซึ่งส่งผลในแง่ดี ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต การย่อยได้ของโภชนะ การตอบสนองภูมิคุ้มกัน การเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร การผลิตกรดไขมันระเหยได้ และแอมโมเนียในไก่เนื้อ

1.3.2 เปลือกกุ้งป่นสามารถใช้เป็นวัตถุดิบอาหารแหล่งโปรตีนสำหรับไก่เนื้อ

1.4 ขอบเขตของงานวิจัย

การวิจัยในครั้งนี้มุ่งเน้นที่จะศึกษาถึง การนำเปลือกกุ้งป่น ซึ่งเป็นเศษเหลือจากอุตสาหกรรมการส่งออกกุ้งแช่แข็งมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด โดยศึกษาผลของไคตินที่เป็นองค์ประกอบในเปลือกกุ้งในแง่ของการเป็นสารพรีไบโอติกที่ส่งผลในแง่ดี ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต การย่อยได้ของโภชนะ การตอบสนองภูมิคุ้มกัน การเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร การผลิตกรดไขมันระเหยได้ การผลิตแอมโมเนียในไก่เนื้อ และศึกษาผลของเปลือกกุ้งป่นในการเป็นวัตถุดิบอาหารแหล่งโปรตีนคุณภาพดีในอาหารไก่เนื้อ โดยเฉพาะในช่วงที่วัตถุดิบอาหารสัตว์ขาดแคลน

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ทราบผลของไคตินที่เป็นองค์ประกอบในเปลือกกุ้งป่นในการเป็นพรีไบโอติก ซึ่งส่งผลดีในแง่สมรรถนะการเจริญเติบโต การย่อยได้ของโภชนะ การตอบสนองภูมิคุ้มกัน การเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร การผลิตกรดไขมันระเหยได้ การผลิตแอมโมเนียในไก่เนื้อ และเพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาการใช้เศษเหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมให้เกิดประโยชน์

1.5.2 ทราบผลของเปลือกกุ้งป่นในการใช้เป็นวัตถุดิบอาหารแหล่งโปรตีนในอาหารไก่เนื้อ

1.5.3 ได้วัตถุดิบอาหารไก่เนื้อที่มีคุณสมบัติในการเป็นทั้งวัตถุดิบอาหารแหล่งโปรตีนคุณภาพดี และแหล่งของสารพรีไบโอติก ซึ่งส่งผลดีต่อสุขภาพไก่เนื้อ

1.6 รายการอ้างอิง

กรมการค้าภายใน สำนักงานส่งเสริมการค้าสินค้าเกษตร (2550). **รายงานภาวะสินค้ากุ้ง: ประจำเดือนตุลาคม 2550** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.dit.go.th/agriculture/product/agri_9/agri_9_1050.pdf

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2552). **รายงานภาวะเศรษฐกิจการเกษตรปี 2551 ภาพรวม กุ้ง** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.oae.go.th/download/document/shrimp51.pdf

นพวรรณ ฉิ้มสังข์ นิฟารีซา เจ๊ะเล๊าะ พรพิมล พิมลรัตน์ และ ชุติมา ตันติกิตติ. (2549). ผลของหัวกุ้งป่นในอาหารต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหารและสีของปลานิลแดงแปลงเพศ (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*). **ว. สงขลานครินทร์ วทท.** 28(5): 951-964.

ปรีชา กันทรากรกิติ. (2552). ภาพรวมอุตสาหกรรมอาหารของไทย (อุตสาหกรรมกุ้งของไทย). **ว. ธุรกิจอาหารสัตว์**. 26(124): 18-72.

วรรณา ชูฤทธิ์ จารุวรัตน์ ชินาจริยวงศ์ ทิพยวรรณ ปริพัฒนานนท์ สุปราณี มณูรักษ์ชินากร ศิริอุมา บำรุงวงษ์ ทวีวิทย์ ภัควนิตย์ และโสภา ชาญโสภณ. (2543). **รายงานการวิจัย เรื่อง การเพิ่มผลผลิตของโรงงานแปรรูปอาหารทะเลและแนวทางการใช้ผลพลอยได้เพื่ออุตสาหกรรมที่ครบวงจร**. มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์. นครศรีธรรมราช.

Austin, P. R., Brine, C. J., Castle, J. E., and Zikakis, J. P. (1981). Chitin: New facets of research. **Science.** 212: 898-904.

Chen, H. C., Chang, C. C., Mau, W. J., and Yen, L. S. (2002). Evaluation of *N* – acetylchitooligosaccharides as the main carbon sources of the growth of intestinal bacteria. **FEMS Microbiol Lett.** 209: 53-56.

Collins, M. D., and Gibson, R. G. (1999). Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut1. **Am. J. Clin. Nutr.** 69(suppl): 1052S–1057S.

Fanimo, A. O., Mudama, E., Umukoro, T. O., and Oduguwa, O. O. (1996). Substitution of shrimp waste meal for fish meal in broiler chicken rations. **Trop. Agric. (Trinidad)** 73(2): 201-205.

Islam, M. A., Hossain, M. D., Baibul, S. M., and Howlider, M. A. (1994). Unconventional feed for broilers. **Ind. Vet. J.** 74: 775-780.

Khempaka, S., Mochizuki, M., Koh, K., and Karasawa, Y. (2006). Effect of chitin in shrimp meal on growth performance and digestibility in growing broilers. **Poult. Sci.** 43: 339-343.

Khempaka, S., Koh, K., and Karasawa, Y. (2006). Effect of shrimp meal on growth performance and digestibility in growing broilers. **Poult. Sci.** 43: 250-254.

Meyers, S. P., and Rutledge, J. E. (1971). Shrimp meal-A new look at an old product. **Feedstuffs**. 43: 31-32.

Oduguwa, O. O., Fanimo, A. O., Olayemi, V. O., and Oteri, N. (2004). The feeding value of sun-dried shrimp-waste meal based diets for starter and finisher broilers. **Arch. Zootec.** 53: 87-90.

Okawa, Y., Kobayashi, M., Suzuki, S., and Suzuki, M. (2003). Comparative study protective effects of chitin, chitosan, and *N*-acetyl chitohexaose against *Pseudomonas aeruginosa* and *Listeria monocytogenes* infection in mice. **Biol. Pharm. Bull.** 26(6): 902-904.

Ramachandran, N. K. G., Mathew, P. T., Madhavan, P., and Prabhu, P. V. (1987). Chitin as a feed additive for broiler chicken. **Indian J. Poult. Sci.** 22(1): 40-44.

Rosenfeld, D. J., Gernat, A. G., Marcano, J. D., Murillo, J. G., Lopez, G. H., and Flores, J. A. (1997). The effect of using different levels of shrimp meal in broiler diets. **Poult. Sci.** 76: 581-587.

บทที่ 2
วรรณกรรมและเอกสารที่เกี่ยวข้อง

2.1 สถานการณ์การผลิต และส่งออกกุ้งของประเทศไทย

ผลผลิตกุ้งทะเลจากการเพาะเลี้ยงของโลกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมากในช่วงปี พ. ศ. 2547-2550 และการส่งออกผลิตภัณฑ์กุ้งในตลาดโลกก็มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทั้งปริมาณ และมูลค่าเช่นกัน ซึ่งประเทศที่ส่งออกกุ้งเป็นอันดับหนึ่งของโลกได้แก่ ไทย รองลงมาได้แก่ จีน อเมริกากลาง-ใต้ อินโดนีเซีย เวียดนาม อินเดีย มาเลเซีย และฟิลิปปินส์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2.1) จากข้อมูลเห็นได้ว่าการผลิตกุ้งของโลกมีการขยายตัวเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องทุกปีตั้งแต่ปี พ.ศ. 2547-2550

ตารางที่ 2.1 ผลผลิตกุ้งของโลกจำแนกตามประเทศผู้ผลิตรายใหญ่ ปี พ.ศ. 2547-2550

ปริมาณ: ตัน

อันดับ	ประเทศ	ปี พ.ศ.			
		2547	2548	2549	2550
1	ไทย	352,000	380,000	500,000	530,000
2	จีน	360,000	380,000	400,000	480,000
3	อเมริกากลาง-ใต้	275,000	304,000	394,000	395,000
4	อินโดนีเซีย	205,000	230,000	260,000	285,000
5	เวียดนาม	106,000	115,000	133,000	145,000
6	อินเดีย	100,250	100,000	103,000	110,000
7	มาเลเซีย	28,000	32,000	42,000	62,000
8	ฟิลิปปินส์	35,000	35,000	36,000	38,000
9	อื่น ๆ	125,000	125,000	55,000	55,000
รวม		1,586,250	1,701,000	1,923,000	2,100,000

ที่มา: ปรีชา กันทรากรกิติ, 2552

การผลิตกุ้งในประเทศไทยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดหลายปีที่ผ่านมา ตั้งแต่ในช่วงปี พ.ศ. 2547-2551 ซึ่งผลผลิตกุ้งประมาณ 88% ได้มาจากการเพาะเลี้ยง ที่เหลืออีกประมาณ 12% ได้จากการจับจากธรรมชาติ ซึ่งปริมาณผลผลิตกุ้งของไทยจากการจับจากธรรมชาติ และจากการเพาะเลี้ยงในปี พ.ศ. 2547-2551 ได้แสดงไว้ในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ปริมาณผลผลิตกุ้งของไทยจากการจับจากธรรมชาติ และจากการเพาะเลี้ยงในปี พ.ศ. 2547-2551

ปี พ.ศ.	จับจากธรรมชาติ		เพาะเลี้ยง		รวม (ตัน)
	ตัน	เปอร์เซ็นต์	ตัน	เปอร์เซ็นต์	
2547	66,155	15.51	360,289	84.49	426,444
2548	67,284	14.36	401,250	85.64	468,534
2549	64,910	11.61	494,401	88.39	559,311
2550*	63,461	11.23	501,506	88.77	564,967
2551*	58,431	10.93	473,622	89.02	532,053
อัตราการขยายตัว	-3.02	-	8.00	-	6.50

หมายเหตุ: * ตัวเลขประมาณการ

ที่มา: กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2552

โดยผลผลิตกุ้งประมาณ 85-90% ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตสินค้ากุ้งเพื่อการส่งออก ที่เหลืออีกประมาณ 10-15% ใช้บริโภคภายในประเทศ ซึ่งการส่งออกในช่วงปี พ.ศ. 2547-2551 ประเทศไทยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทั้งปริมาณและมูลค่า การส่งออกผลิตภัณฑ์กุ้งส่วนใหญ่อยู่ในรูปกุ้งสดแช่แข็ง คิดเป็น 51.12% ของมูลค่าการส่งออกทั้งหมด รองลงมาได้แก่ กุ้งปรุงแต่ง และกุ้งแห้ง ตามลำดับ และปริมาณและรูปแบบการส่งออกผลิตภัณฑ์กุ้งของประเทศไทยในปี พ.ศ. 2547-2551 แสดงดังตารางที่ 2.3 ซึ่งการส่งออกกุ้งในลักษณะดังกล่าวส่วนใหญ่มักมีการนำส่วนของหัว และเปลือกกุ้งออก จึงทำให้เกิดผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการส่งออกกุ้งแช่แข็ง ที่ประกอบด้วย ส่วนหัว เปลือก และหางกุ้ง (Exoskeleton)

ตารางที่ 2.3 ปริมาณและรูปแบบการส่งออกผลิตภัณฑ์กุ้งของประเทศไทย ปี พ.ศ. 2547-2551

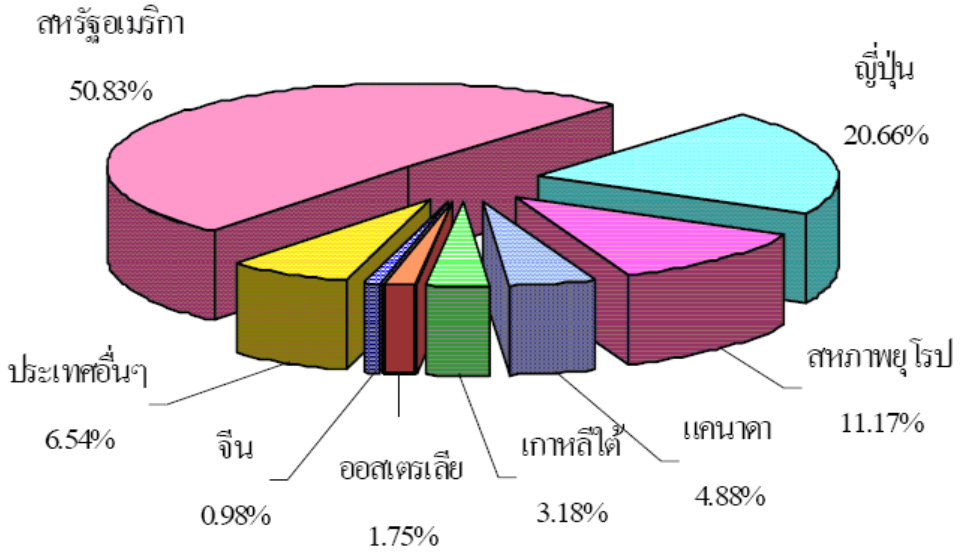
ปริมาณ: ตัน

รายการ	ปี พ.ศ.					
	2547	2548	2549	2550	2551*	อัตราการขยายตัว
กุ้งสดแช่เย็นแช่แข็ง	122,465	157,967	178,573	195,520	195,000	12.11
กุ้งปรุงแต่ง	117,795	121,053	165,831	158,303	159,360	9.12
กุ้งปรุงแต่ไม่บรรจุภาชนะอัดลม	112,431	116,782	161,281	126,431	137,100	4.88
กุ้งปรุงแต่งบรรจุภาชนะอัดลม	5,355	4,259	4,496	29,141	18,160	54.74
กุ้งปรุงแต่งทำไว้มิให้เสีย	9	12	54	2,732	4,100	485.38
กุ้งแห้ง	490	540	754	95	130	-35.54
กุ้งต้ม	163	158	1,064	841	60	-3.22
กุ้งอื่น ๆ	-	-	-	304	650	113.82
กุ้งทำพันธุ์	-	-	-	673	300	-55.42
กุ้งมีชีวิต	-	-	10	1,029	500	-51.41
รวม	240,913	279,718	346,232	356,765	356,000	10.66

หมายเหตุ: *ค่าประมาณการ

ที่มา: กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2552

ประเทศซึ่งนำเข้าผลิตภัณฑ์กุ้งที่สำคัญในช่วงปี พ.ศ. 2547-2551 ได้แก่ 1) สหภาพยุโรป โดยปริมาณการนำเข้าจากไทยคิดเป็น 5.23% ของปริมาณการนำเข้าทั้งหมด 2) สหรัฐอเมริกา โดยนำเข้าจากไทยเป็นส่วนใหญ่ คิดเป็น 30.36% ของปริมาณการนำเข้าทั้งหมด รองลงมาได้แก่อินโดนีเซีย เอกวาดอร์ และจีน ตามลำดับ 3) ญี่ปุ่น โดยนำเข้าจากอินโดนีเซียเป็นอันดับหนึ่ง คิดเป็น 21.24% ของปริมาณการนำเข้าทั้งหมด รองลงมาได้แก่เวียดนาม ไทย อินเดีย ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่า สหรัฐอเมริกา และญี่ปุ่น ถือเป็นประเทศที่นำเข้าผลิตภัณฑ์กุ้งจากไทยที่สำคัญ ซึ่งสัดส่วนการส่งออกสินค้า และผลิตภัณฑ์จากกุ้งของประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2550 แสดงดังภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 สัดส่วนการส่งออกสินค้า และผลิตภัณฑ์จากกุ้งของประเทศไทยใน ปี พ.ศ. 2550
ที่มา: กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2552

จากข้อมูลที่ได้กล่าวมาข้างต้น เห็นได้ว่าการส่งออกผลิตภัณฑ์กุ้งเป็นผลิตภัณฑ์สัตว์น้ำส่งออกประเภทหนึ่ง ที่ทำรายได้สูงให้แก่ประเทศไทยตลอดมา โดยในปี พ.ศ. 2550 ผลผลิตกุ้งของโลกมีปริมาณ 2,100,000 ตัน ซึ่งประเทศไทยผลิตได้เป็นอันดับ 1 ของโลก 530,000 ตัน (ปรีชา กันทรากรกิติ, 2552) ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีการผลิตและส่งออกกุ้งแช่แข็งรายใหญ่ของโลก คิดเป็น 26% ของปริมาณผลผลิตโลก (กรมการค้าภายใน สำนักงานส่งเสริมการค้าสินค้าเกษตร, 2550) โดยในปี พ.ศ. 2551 ประเทศไทยมีปริมาณการผลิตกุ้งสดแช่แข็ง 195,000 ตัน (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2552) ซึ่งจะมีเศษเหลือจากกุ้งประมาณ 160,000 ตัน จึงทำให้มีปริมาณมากในแต่ละปี การนำเศษเหลือดังกล่าวไปใช้ให้ถูกประเภทก็จะก่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด อีกทั้งเปลือกกุ้งถือได้ว่าเป็นเศษเหลือที่มีคุณค่าทางโภชนะสูง โดยมีโปรตีน 56.95% (นพวรรณ ฉิ้มสังข์, นิฟารีซา เจ๊ะเล๊าะ, พรพิมล พิมลรัตน์, และ ชุติมา ตันติกิตติ, 2549) และเปลือกกุ้งยังมีสารสี Astaxanthin เป็นองค์ประกอบที่สูง ซึ่งน่าจะสามารถนำมาใช้ทดแทนแหล่งโปรตีนอื่น และช่วยปรับปรุงลักษณะสีของเนื้อได้ นอกจากนั้นเปลือกกุ้งยังสามารถใช้เป็นแหล่งแร่ธาตุ โดยมีแคลเซียมสูงถึง 16.69% (Mahata, Dharma, Ryanto, and Rizal, 2008) และยังมีสารไคตินซึ่งมีบทบาทในการเป็นพรีไบโอติกได้ นอกจากนั้นยังสามารถนำไปใช้ประโยชน์หลายด้านทั้งในอุตสาหกรรมยา เคมี เครื่องสำอาง อาหารและเครื่องดื่ม ตลอดจนการใช้ในการบำบัดน้ำเสีย ดังนั้นจึงเป็นการคุ้มค่าอย่างยิ่งในการศึกษาถึงการใช้ผลผลอยได้จากอุตสาหกรรมการผลิตกุ้งแช่แข็งซึ่งมีอยู่มากให้เกิดผลประโยชน์สูงสุด

2.2 เปลือกกุ้ง (Shrimp shell)

เปลือกกุ้งเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการส่งออกกุ้งแช่แข็ง ซึ่งการส่งออกกุ้งในลักษณะดังกล่าวส่วนใหญ่มักมีการนำส่วนของหัว และเปลือกกุ้งออก หรือการนำทั้งส่วนหัว เปลือก และหางกุ้งออกด้วย จึงทำให้เกิดผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการส่งออกกุ้งแช่แข็ง ที่ประกอบด้วยส่วนหัว เปลือก และหางกุ้ง (Exoskeleton) ซึ่งสามารถนำเป็นเศษเหลือไปใช้ประโยชน์ในการเป็นแหล่งโปรตีนจากสัตว์ที่มีศักยภาพโดยการนำไปบดทำเป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์ และสารสี Astaxanthin ที่เป็นองค์ประกอบในเปลือกกุ้ง ก็สามารถใช้ในการเพิ่มสีในเนื้อ หรือไข่ได้ นอกจากนั้นหากมองลึกลงไปให้ถึงองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกกุ้ง และหัวกุ้งแล้ว สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้มากกว่านั้น โดยเฉพาะส่วนของสารโพลิแซ็กคาไรด์ ซึ่งเป็นไบโอโพลิเมอร์ที่เรียกว่า ไคติน (Chitin) ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักที่มีอยู่มากในเปลือกกุ้งและหัวกุ้ง โดยสามารถนำไปใช้ประโยชน์หลายด้านทั้งในอุตสาหกรรมยา เคมี เครื่องสำอาง อาหารและเครื่องดื่ม ตลอดจนการใช้ในการบำบัดน้ำเสีย จึงเป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่งในการนำเศษเหลือจากกุ้งมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด

2.2.1 องค์ประกอบทางโภชนะของเปลือกกุ้งป่น (Shrimp shell meal)

เปลือกกุ้งป่นมีศักยภาพในการใช้เป็นวัตถุดิบอาหารแหล่งโปรตีน และแหล่งแร่ธาตุในอาหารสัตว์ เนื่องจากมีโปรตีน แคลเซียม และฟอสฟอรัส ในระดับที่สูง ซึ่งองค์ประกอบทางโภชนะของเปลือกกุ้งดังรายงานของ นพวรรณ ชูฤทธิ์ และคณะ (2549); Fanimo, Mudama, Umukoro, and Oduguwa (1996); Fanimo, Oduguwa, Oduguwa, Ajas, and Jegede (2004); Fanimo, Susenbeth, and Südekum (2006); Gernat (2001); Ingweye, Okon, Ubua, and Essien (2008); Khempaka, Koh, and Karasawa (2006); Mahata et al. (2008); Oduguwa, Fanimo, Olayemi, and Oteri (2004); Ojewola, and Udom (2005); Okoye, Ojewol, and Njoku-Onu (2005); Rosenfeld et al. (1997) แสดงดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 องค์ประกอบทางโภชนะของเปลือกกุ้ง (as fed basis)

Nutritional composition (%)									References
Dry matter	**Crude protein**	**Ether extract**	**Ash**	**Crude fiber**	**Calcium**	**Total phosphorus**	**Chitin**	**Energy (Kcal/kg)**	
95.40	56.95	4.51	24.46	13.18	-	-	-		นพวรรณ และคณะ (2549) [1/]
93.00	47.20	6.80	17.10	3.80	-	-	11.10	2,509	Fanimo et al. (1996)
82.38	50.89	6.31	15.64	8.92	5.21	1.47	-	2,397[2/]	Rosenfeld et al. (1997)
89.50	52.70	6.20	20.41	11.38	5.21	1.47[3/]	-	2,234	Gernat (2001)
92.30	39.45	9.00	24.00	12.30	15.77	0.45	-		Fanimo et al. (2004)
91.90	40.20	4.80	16.20	10.90	-	-	-	-	Oduguwa et al. (2004)
91.27	53.47	3.42	16.8	1.18	0.74	0.31	-	1,312	Ojewola and Udom (2005)
-	46.30	9.04	17.04	4.30	7.00	3.03	9.82	2,500	Okoye et al. (2005) [1/,4/]
94.10	22.80	2.50	56.00	20.00	-	-	15.50		Fanimo et al. (2006) [1/]
-	39.32[5/]	0.94	26.73	29.75	6.05	0.97	30.44	1,350	Khempaka, Koh, and Karasawa (2006) [1/]
90.58	48.30	6.30	17.55	13.30	-	-	-	2,595	Ingweye et al. (2008)
92.13	24.03	5.14	25.60	26.89	16.69	0.85	18.70	938	Mahata et al. (2008)

หมายเหตุ: [1/] %DM ; [2/] TME_n, [3/] Available phosphorus ; [4/] อ้างจาก Fanimo and Oduguwa (1999) ; [5/] Corrected crude protein = (total N-chitin N)*6.25

จากตารางที่ 2.4 เห็นได้ว่าองค์ประกอบทางโภชนะของเปลือกกุ้งมีความผันแปรค่อนข้างมากในแต่ละแหล่งข้อมูล โดยภาพรวมแล้วเปลือกกุ้งมีโปรตีนอยู่ในช่วง 22.80-56.95%, ไขมัน 0.95-9.80%, เถ้า 15.64-56.00%, เยื่อใย 1.18-29.75%, แคลเซียม 0.75-16.69%, ไคติน 9.82-30.44% และพลังงาน 938-2,595 Kcal/kg ซึ่งองค์ประกอบทางโภชนะของเปลือกกุ้งที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยได้แก่ แหล่งที่มา สายพันธุ์กุ้ง และวิธีการแปรรูป (Meyers, Rutledge, and Sonu, 1973; Ngoan, Lindberg, Ogle, and Thomke, 2000) โดยกุ้งสายพันธุ์ใหญ่จะมีระดับโปรตีนสูงกว่ากุ้ง

2.2.2 คุณสมบัติในการเป็นสารให้สีของเปลือกกุ้งป่น

เปลือกกุ้งมีส่วนประกอบของสารให้สีซึ่งสามารถใช้ในการเพิ่มสีในเนื้อ หรือไข่ได้ จากรายงานของ Hertrampf and Piedad (2000) พบว่าเปลือกกุ้งมีสารให้สี Astaxanthin และ Cantaxanthin ที่ระดับ 7 และ 27 มก./กก. ตามลำดับ สอดคล้องกับ Khempaka, Mochizuki, Koh, and Karasawa (2006) รายงานว่าการใช้เปลือกกุ้งในอาหารไก่เนื้อที่ระดับ 4-12% สามารถเพิ่มความแดง (Redness) ในเนื้อส่วนน่อง นอกจากนี้ Gernat (2001) พบว่าการใช้เปลือกกุ้งในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 4.6-18.6% สามารถเพิ่มสีของไข่แดงได้

2.2.3 ข้อจำกัดในการใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารสัตว์

เปลือกกุ้งประกอบด้วยไคติน (Chitin) ซึ่งปริมาณของไคตินจะผันแปรไปตามสัดส่วนของหัว และหางกุ้ง ซึ่งไคตินเป็นส่วนที่ย่อยได้ยาก และนำมาใช้ประโยชน์ได้น้อย (สาโรช ค้าเจริญ, 2547) รวมทั้งมีหลายงานวิจัยที่ได้รายงานว่า ไคตินเป็นตัวจำกัดในการใช้ประโยชน์ของโภชนะ เนื่องจากไคตินมีการย่อยได้ต่ำเมื่อนำมาใช้เลี้ยงสัตว์ (Austin, Brine, Castle, and Zikakis, 1981; Fanimo et al., 1996; Oduguwa et al., 2004; Khempaka, Mochizuki, Koh, and Karasawa, 2006; Khempaka, Koh, and Karasawa, 2006)

นอกจากไคตินแล้ว ข้อจำกัดในการใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารสัตว์คือ ปริมาณของเถ้า แคลเซียม และเกลือ เปลือกกุ้งป่นโดยทั่วไปมีเกลือประมาณ 3% หากระดับเกลือซึ่งใช้ป้องกันไม่ให้เปลือกกุ้งเน่าก่อนที่จะนำไปทำให้แห้งสูงเกินระดับดังกล่าว การใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารสัตว์จำเป็นต้องจำกัดไม่ให้สูงเกินไป ควรใช้เปลือกกุ้งป่นร่วมกับแหล่งโปรตีนอื่นเพื่อช่วยลดระดับของเถ้า แคลเซียม และเกลือในอาหารให้น้อยลง (สาโรช ค้าเจริญ, 2547)

ตารางที่ 2.5 องค์ประกอบของกรดอะมิโนในเปลือกกุ้ง และกากถั่วเหลือง

Amino acid (%)	Soybean meal[1/]	Shrimp shell meal			
		Rosenfeld et al. (1997)	Gernat (2001)	Fanimo et al. (2004)	Khempaka, Koh, and Karasawa (2006)[2/, 3/]
Crude protein	44	47.20	52.70	39.45	39.32
Essential amino acid					
Lysine	2.69	2.93	3.07	1.66	1.64
Methionine	0.62	1.08	0.82	0.80	-
Cystine	0.66	0.39	0.38	0.40	-
Threonine	1.72	2.05	1.59	1.42	1.70
Tryptophan	0.74	0.51	0.41	0.40	0.35
Arginine	3.14	3.40	2.49	1.60	2.30
Isoleucine	1.96	1.85	1.76	1.50	1.31
Leucine	3.39	3.16	3.01	2.18	1.94
Valine	2.07	2.19	2.19	1.98	2.06
Histidine	1.17	2.93	0.85	0.64	0.93
Phenylalanine	2.16	2.24	1.86	4.36	2.01
Non-essential amino acid					
Tyrosine	1.91	1.61	1.44	1.84	-
Glycine	1.90	2.87	2.58	1.96	-
Serine	2.29	2.17	1.48	1.42	-
Proline	-	2.24	1.81	1.34	-
Alanine	-	2.61	2.64	1.92	-
Aspartic acid	-	4.88	3.98	3.38	-
Glutamic acid	-	6.25	5.71	4.52	-

หมายเหตุ: [1/] NRC (1994); [2/] Corrected crude protein = (total N-chitin N)*6.25; [3/] g/100g protein

2.3 ผลการใช้เปลือกกุ้งป่นในไก่เนื้อ

2.3.1 การใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต

การใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต แสดงในตารางที่ 2.6 จากรายงานของ Fanimo et al. (1996) พบว่าการใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อที่อายุ 0-56 วัน ในระดับ 4.9% (Starter) และ 2.7% (Finisher) ไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต แต่เมื่อใช้เปลือกกุ้งในระดับมากขึ้น (9.9-14.8%) ส่งผลให้สมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อลดลงแต่ไม่ส่งผลต่ออัตราการตายของไก่เนื้อ Rosenfeld et al. (1997) พบว่าการใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อที่อายุ 0-42 วัน ในระดับ 31.6% (Starter) 26.5% (Grower) และ 19.2% (Finisher) ส่งผลในการเพิ่มน้ำหนักตัวของไก่เนื้อได้ และไม่ส่งผลต่ออัตราการตายของไก่เนื้อ Oduguwa et al. (2004) พบว่าการใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อที่อายุ 0-28 และ 29-56 วัน ในระดับ 11.3% และ 6.4% ตามลำดับ ส่งผลให้สมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อลดลง Khempaka, Koh, and Karasawa (2006) พบว่า การใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อที่อายุ 8-29 วัน ในระดับ 8% ไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต แต่เมื่อใช้เปลือกกุ้งในระดับมากขึ้น (12-16%) ส่งผลให้สมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อลดลง จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นได้ว่าการใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อในแต่ละแหล่งข้อมูล ให้ผลการทดลองที่แตกต่างกัน โดยสรุปพบว่า สามารถใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อได้ตั้งแต่ระดับ 4.9% ถึง 31.6% ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากองค์ประกอบทางโภชนะของเปลือกกุ้งป่นที่ต่างกัน โดยเฉพาะในส่วนของโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในเปลือกกุ้งป่น เช่นการทดลองของ Rosenfeld et al. ที่สามารถใช้เปลือกกุ้งในอาหารไก่เนื้อได้ 31.6% ในขณะที่ Khempaka, Koh, and Karasawa สามารถใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อได้เพียง 8% เมื่อพิจารณาจากปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในเปลือกกุ้งจากทั้ง 2 แหล่งข้อมูล พบว่ามีค่าประมาณ 50.9% และ 39.3% ตามลำดับ นอกจากนี้ระดับของเยื่อใย เถ้า และไคตินที่แตกต่างกันในเปลือกกุ้งป่นล้วนแล้วแต่มีผลต่อการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ รวมทั้งแหล่งที่มา สายพันธุ์กุ้ง วิธีการแปรรูป ชนิดของเปลือกกุ้งที่นำมาใช้ และอายุของไก่เนื้อที่แตกต่างกันก็ส่งผลต่อการใช้ประโยชน์ของเปลือกกุ้งในอาหารไก่เนื้อเช่นกัน

ตารางที่ 2.6 ผลการใช้เปลือกกุ้งป่นที่มีระดับโปรตีนแตกต่างกันในอาหารไก่เนื้อต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต

Age (day)	Crude protein (%)	Shrimp shell meal (%)	Weight gain (g)	FI (g/bird)	FCR	Mortality (%)	References
0-56	47.2	0, 0	1,555[a]	4,340	2.79[b]	4.0	Fanimo et al. (1996)[1/]
		4.9, 2.7	1,760[a]	4,462	2.53[b]	8.0	
		9.9, 5.4	1,368[b]	4,585	3.31[b]	12.0	
		14.8, 8.1	1,007[c]	4,829	4.79[a]	28.0	
0-42	50.9	0	1,939[B]	3,767	1.97	1.86	Rosenfeld et al. (1997)[2/]
		18.9, 15.9, 11.5	2,020[B]	3,727	1.84	1.42	
		25.2, 21.2, 15.3	1,952[B]	3,717	1.90	1.42	
		31.6, 26.5, 19.2	2,065[A]	3,815	1.85	1.54	
0-28	40.2	0	711.76[a]	1,312.92[a]	1.85[c]	-	Oduguwa et al. (2004)
		11.3	461.80[b]	1,244.60[b]	2.69[b]	-	
		20.1	378.34[c]	1,244.32[b]	3.28[a]	-	
29-56	40.2	0	1,507.30[a]	3,827.04[a]	2.54[c]	-	
		6.5	1,120.07[b]	3,605.00[b]	3.22[b]	-	
		20.1	774.91[c]	3,462.20[b]	4.56[a]	-	
8-29	39.3	0	1,270[ab]	1,785[ab]	1.41[a]	-	Khempaka, Koh, and Karasawa (2006)
		4.0	1,335[a]	1,911[a]	1.43[ab]	-	
		8.0	1,194[abc]	1,722[ab]	1.45[ab]	-	
		12.0	1,077[c]	1,596[b]	1.49[b]	-	
		16.0	1,125[bc]	1,659[b]	1.49[b]	-	

หมายเหตุ: [a, b, c] ในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$), [A, B] ในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$), FI = Feed intake, FCR = Feed conversion ratio [1/] %Shrimp meal ในอาหารระยะ Starter และ Finisher, [2/] %Shrimp meal ในอาหารระยะ Starter, Grower และ Finisher

2.3.2 การใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อต่อการย่อยได้ของโภชนะ

การใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารต่อการย่อยได้ของโภชนะในไก่เนื้อ แสดงไว้ในตารางที่ 2.7 จากรายงานของ Fanimo et al. (1996) พบว่าการใช้เปลือกกุ้งป่นที่ระดับ 9.9 และ 5.4% ในระยะ Starter และ Finisher ตามลำดับ ไม่ส่งผลกระทบต่อการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน (Protein

ตารางที่ 2.7 ผลการใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อต่อการย่อยได้ของโภชนะ

Age	Crude protein	Shrimp shell	Nutrient digestibility (%)				References
(day)	(%)	meal (%)	Dry matter	Protein[1/]	Ash	Chitin	
0-21	47.2	0	-	71.70[a]	-	-	Fanimo et al. (1996)
		4.9	-	70.44[a]	-	-	
		9.9	-	63.86[ab]	-	-	
		14.8	-	56.19[b]	-	-	
0-49	47.2	0	-	75.88[a]	-	-	
		2.7	-	76.12[a]	-	-	
		5.4	-	67.90[a]	-	-	
		8.1	-	65.88[b]	-	-	
15-25	39.32	0	76.1[a]	64.5[a]	39.1[a]	-	Khempaka,
		4.0	76.1[a]	64.1[a]	34.2[b]	22.1	Mochizuki, Koh, and
		8.0	74.7[bc]	61.3[ab]	30.2[c]	19.4	Karasawa (2006)
		12.0	74.2[c]	60.5[b]	29.9[c]	18.1	
8-29	39.32	0	78.0[a]	64.7	-	-	Khempaka, Koh, and
		4.0	77.5[a]	65.1	-	-	Karasawa (2006)
		8.0	77.1[ab]	63.2	-	-	
		12.0	75.8[b]	61.9	-	-	
		16.0	74.3[c]	62.0	-	-	

หมายเหตุ: [1/] Utilization; [a, b, c] ในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

2.3.3 การใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อต่อคุณภาพซาก

การใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารต่อคุณภาพซากของไก่เนื้อ แสดงในตารางที่ 2.8 จากรายงานของ Fanimo et al. (1996) พบว่าการใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อที่ระดับ 14.79% ไม่ส่งผลกระทบต่อน้ำหนักซาก (Carcass weight) เปอร์เซ็นซาก (Carcass yield) และเปอร์เซ็นไขมันในช่องท้อง (Abdominal fat) สอดคล้องกับ Rosenfeld et al. (1997) ที่รายงานว่าการใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อ ในระดับ 12.40 และ 31.60% ไม่ส่งผลกระทบต่อน้ำหนักซาก (Carcass weight) และเปอร์เซ็นซาก (Carcass yield) ของไก่เนื้อ

ตารางที่ 2.8 ผลการใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อ ต่อคุณภาพซาก

Age (day)	Crude protein (%)	Shrimp shell meal (%)	Carcass quality			References
			Carcass weight (g)	Carcass yield (%)	Abdominal fat (%)	
0-56	47.2	0	1,140	71.25	1.38	Fanimo et al. (1996)[1/]
		4.9, 2.7	1,000	68.25	2.22	
		9.9, 5.4	860	66.15	2.17	
		14.8, 8.1	750	65.22	2.27	
0-49	50.89	0	1633	70.02	-	Rosenfeld et al. (1997)[2/]
		3.1, 2.6, 2.0	1612	68.20	-	
		6.2, 5.2, 4.1	1663	70.06	-	
		9.3, 7.8, 6.2	1633	70.51	-	
		12.4, 10.4, 8.3	1645	70.32	-	
0-42	50.89	0	1260	65.1	-	
		18.9, 15.9, 11.5	1317	65.1	-	
		25.2, 21.2, 15.3	1276	65.4	-	
		31.6, 26.5, 19.2	1413	68.6	-	

หมายเหตุ: [1/] %Shrimp meal ในอาหารระยะ Starter และ Finisher, [2/] %Shrimp meal ในอาหารระยะ Starter, Grower และ Finisher

2.3.4 การใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อต่อสีของเนื้อ

ผลของการใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารต่อสีของเนื้อ แสดงในตารางที่ 2.9 โดย Khempaka, Mochizuki, Koh, and Karasawa (2006) พบว่าการใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อในระดับ 4-12% สามารถลดความสว่าง (L* value) ในเนื้อส่วนหน้าอก (Breast) และเพิ่มความแดง (a* value) ในเนื้อส่วนสะโพก (Thigh) ทั้งนี้ค่าความแดงของเนื้อมีความสัมพันธ์กับปริมาณเม็ดสีในเนื้อ

ตารางที่ 2.9 ผลการใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อต่อสีของเนื้อ

Color	Shrimp shell meal (%)			
	0	**4**	**8**	**12**
Lightness (L* value)				
Breast meat	57.6[a]	56.1[ab]	55.0[b]	55.2[b]
Thigh	51.3	48.9	49.9	49.9
Skin	64.1	65.0	64.7	65.4
Redness (a* value)				
Breast meat	3.9	4.1	3.6	5.0
Thigh	5.7[b]	7.3[a]	7.4[a]	7.2[a]
Skin	5.2	5.0	4.9	4.6
Yellowness (b*value)				
Breast meat	4.9	5.6	5.7	5.2
Thigh	3.7	3.5	3.9	3.8
Skin	6.8	7.0	6.6	8.7

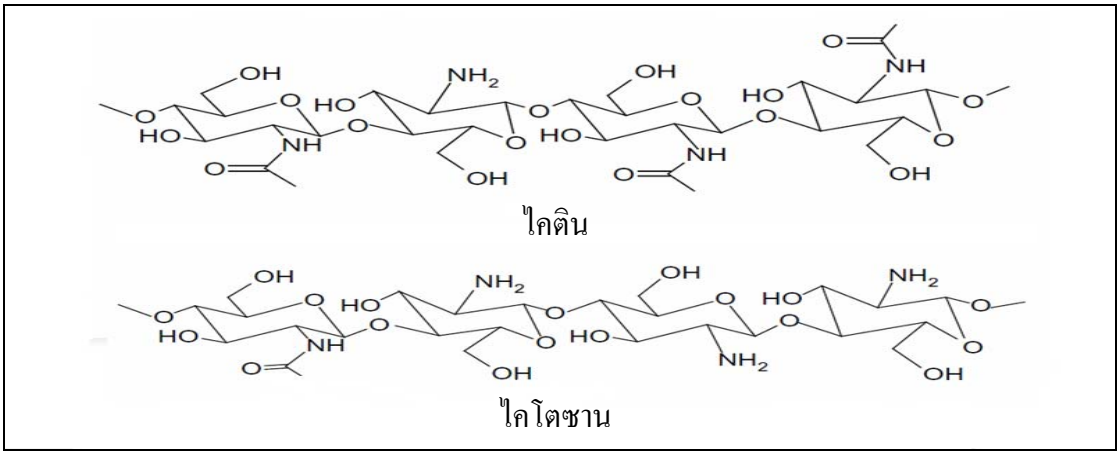
หมายเหตุ: [a, b] ในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ที่มา: Khempaka, Mochizuki, Koh, and Karasawa, 2006

2.4 ไคติน (Chitin)

ไคติน เป็นสารอินทรีย์ธรรมชาติประเภทโพลิเมอร์ (Polymer) โมเลกุลใหญ่ที่เกิดจากโมเลกุลย่อยอย่างน้อย 5 ตัวขึ้นไปมาต่อกัน โดยมากมักต่อกันเป็นร้อยหรือเป็นพันตัวมีโครงสร้างเป็นโฮโมโพลิแซ็กคาไรด์ของ *N*-acetylglucosamine ที่จับกันด้วยพันธะแบบ ß (1—›4) ไม่ละลายน้ำ กรด และด่าง โดยทำหน้าที่เป็นโครงสร้างป้องกันและสร้างความแข็งแรงให้แก่ผนังเซลล์สิ่งมีชีวิต ไคตินเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของกระดองปู เปลือกกุ้ง หอย แมลง แกนปลาหมึก และยีสต์ เป็นต้น

ไคโตซาน เป็นเป็นอนุพันธุ์ของไคติน ได้จากการนำไคตินไปผ่านกระบวนการกำจัดหมู่อะซิทิล ทำให้หมู่อะซิตามีนของไคตินถูกเปลี่ยนเป็นหมู่อะมิโน โดยทั่วไปมักจะพบไคตินและไคโตซานอยู่ด้วยกันในลักษณะเป็นโคโพลิเมอร์ มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ แต่สามารถละลายได้ในกรดอินทรีย์ เป็นโพลิเมอร์ธรรมชาติที่มีประจุบวกแสดงดังภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของไคตินและไคโตซาน
ที่มา: Mourya and Inamdar, 2008

2.4.1 แหล่งของไคติน

ในธรรมชาติสามารถพบไคตินซึ่งมีปริมาณมากเป็นอันดับสองรองจากเซลลูโลส โดยส่วนมากพบในรูปที่เป็นสารประกอบเชิงซ้อนปะปนอยู่กับสารอื่น ๆ เช่น อยู่รวมกับหินปูน หรือแคลเซียม และโปรตีน แหล่งสำคัญของไคตินสามารถพบได้ในโครงสร้างเปลือกนอกของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง โดยเฉพาะอย่างยิ่งส่วนที่เป็นเปลือกนอกของสัตว์พวกแมลง ปู กุ้ง และแกนปลาหมึก นอกจากนี้ยังพบในผนังเซลล์ของเห็ดรา และสาหร่ายบางสายพันธุ์ ดังแสดงในตารางที่ 2.10

ตารางที่ 2.10 แหล่งของไคติน

Marine	**Insects**	**Microorganisms**
Annelida	Scorpions	Green algae
Mollusca	Spiders	Yeast (b-type)
Coelenterata	Brachiopods	Fungi (cell walls)
Crustaceans:	Ants	Mycelia Penicillium
Lobster	Cockroaches	Brown algae
Crab	Beetles	Spores
Shrimp		Chytridiaceae
Prawn		Ascomydes
Krill		Blastocladiaceae

ที่มา: Mathur and Narang, 1990

2.4.2 กระบวนการผลิตไคติน และไคโตซาน

กระบวนการผลิตไคติน และไคโตซานมีขั้นตอนพื้นฐานอยู่ 3 ขั้นตอน ดังนี้

1) กระบวนการกำจัดโปรตีน (Deproteinization) โดยการทำปฏิกิริยากับด่าง ซึ่งส่วนใหญ่ใช้โซดาไฟ (NaOH) หรือ KOH ในกระบวนการนี้โปรตีนส่วนใหญ่จะถูกขจัดออกไปจากวัตถุดิบพร้อมกับบางส่วนของไขมันและรงควัตถุบางชนิดจะถูกขจัดออกไปด้วย อย่างไรก็ตามการพิจารณาใช้กระบวนการนี้ขึ้นอยู่กับประเภทของวัตถุดิบที่จะนำมาใช้

2) กระบวนการกำจัดเกลือแร่ (Demineralization) โดยการนำวัตถุดิบหรือวัตถุดิบซึ่งผ่านกระบวนการกำจัดโปรตีนมาแล้วมาทำปฏิกิริยากับกรด ซึ่งส่วนใหญ่ใช้กรดเกลือ (HCI) ทำให้เกลือแร่ส่วนใหญ่ ได้แก่ หินปูน (Calcium carbonate, $CaCO_3$) ซึ่งจะถูกกำจัดออกไปโดยเปลี่ยนไปเป็นก๊าซคาร์บอนไดอ๊อกไซด์ (Carbon dioxide, CO_2) พร้อมกันนี้บางส่วนของรงควัตถุและโปรตีนที่ละลายได้ในกรดจะถูกกำจัดออกไป วัสดุที่ได้หลังจากกระบวนการกำจัดเกลือแร่คือไคติน (Chitin)

3) กระบวนการกำจัดหรือลดหมู่อะซีติล (Deacetylation) เป็นการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่ใช้ในการกำจัดหรือลดหมู่อะซีติล (CH_2CO-) ที่มีอยู่บนโมเลกุลของไคติน เพื่อให้เกิดเป็นไคโตซาน (Chitosan) ซึ่งเป็นการเพิ่มขึ้นของหมู่อะมิโน (-NH_2) บนโมเลกุลของไคติน และหมู่อะมิโนนี้มีความสามารถในการรับโปรตอนจากสารละลายซึ่งช่วยให้การละลายดีขึ้น เพราะมีสมบัติเป็นประจุบวก (Cation) ส่วนใหญ่เมื่อหมู่อะซีติลถูกกำจัดไปมากกว่า 60% สารไคโตซานที่ได้สามารถละลายได้ใน

ภาพที่ 2.3 กระบวนการผลิตไคติน และไคโตซาน

2.5 การนำไคติน และไคโตซานไปใช้ประโยชน์

ไคตินและไคโตซานสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้แพร่หลาย ทั้งด้านวัสดุทางการแพทย์และเภสัช ด้านสิ่งแวดล้อม ด้านการเกษตร และด้านอุตสาหกรรม ทั้งนี้เนื่องจากมีคุณสมบัติเด่นคือ ไม่มีปฏิกิริยาต่อต้านจากร่างกาย โดยเป็นคาร์โบไฮเดรตที่สลายตัวอย่างช้า จึงไม่ส่งผลใด ๆ ที่เป็นอันตรายต่อผู้อุปโภคบริโภค ในด้านการเกษตร ไคโตซานใช้เป็นสารเคลือบเมล็ดข้าวสารเพื่อป้องกันเชื้อรา ใช้ไคตินในการเตรียมดินสำหรับเพาะปลูกทำให้ลดโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราในดินได้ นอกจากนี้พบว่าการใช้ไคตินในอาหารไก่เนื้อในระดับ 0.5% สามารถเพิ่มน้ำหนักตัวของไก่เนื้อได้ (Ramachandran, Mathew, Madhavan, and Prabhu, 1987) และจากการที่ไคโตซานเป็นสารโพลิเมอร์ที่อุ้มน้ำ การนำมาห่อหุ้มต้นอ่อนจะช่วยให้มีการเจริญเติบโตได้ดีขึ้น ด้านการแพทย์และเภสัชวิทยาใช้ไคติน และไคโตซานในการรักษาบาดแผล เพื่อใช้ในการรักษาแผลผ่าตัด และไฟไหม้ ซึ่งจะช่วยให้แผลหายเร็วขึ้น ทำผลิตภัณฑ์แผ่นปิดตกแต่งแผล ด้ายเย็บแผล ซึ่งข้อดีคือ จะสลายตัวอย่างช้า ๆ และถูกดูดซับเข้าร่างกาย โดยไม่มีปฏิกิริยาต่อต้านจากร่างกาย ใช้เป็นเลนส์สายตา ใช้เป็นแคปซูลบรรจุยา ใช้เป็นสารป้องกันการตกตะกอนของเลือด ใช้เป็นตัวจับและตกตะกอนเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว ใช้ผลิตผนังเทียม เช่น ผนังไต ใช้เป็นสารลดโคเลสเตอรอล และใช้เป็นสารเชื่อมหรืออุดฟันในด้านทันตกรรม และด้านอุตสาหกรรม ใช้ไคโตซานเป็นสารก่อให้เกิดอิมัลชัน การจับกับสี การเกิดแผ่นฟิล์ม การเกิดเจล และการเป็นสารลดแรงตึงผิว จึงประยุกต์ใช้ไคติน-ไคโตซานได้ในอุตสาหกรรมหลายด้าน เช่น ในอุตสาหกรรมอาหารจะใช้ไคโตซานเป็นวัสดุห่อหุ้มอาหารหรือยืดอายุของผลไม้ เนื่องจากมีคุณสมบัติในการต่อต้านจุลินทรีย์ การทำให้น้ำผลไม้ใส ตกตะกอนไวน์ขาวและไวน์แดง เนื่องจากไม่มีผลต่อสีของไวน์ ตลอดจนจากการวิจัยในสัตว์หลายชนิดพบว่าการบริโภคไคโตซานสามารถลดปริมาณโคเลสเตอรอลในเลือดได้ ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางไคโตซานถูกนำมาใช้เป็นสารเพิ่มความข้นเหนียวในครีม เป็นส่วนผสมในโลชั่นเพื่อเพิ่มความชุ่มชื้น เป็นส่วนผสมในแชมพูสระผมครีมนวดผม และครีมปรับสภาพ ใช้เป็นส่วนประกอบในแป้งแต่งหน้า เพื่อเพิ่มความชุ่มชื้น ความเรียบ รวมทั้งได้มีการนำสารไคโตซานมาใช้ในโฟมล้างหน้า เพื่อการรักษาความสะอาด และลดความมันบนใบหน้า สำหรับในอุตสาหกรรมกระดาษ ไคโตซานได้ถูกใช้เพื่อเป็นสารช่วยการยึดติดโดยใช้เพียง 1% โดยน้ำหนักกระดาษที่ได้จะมีความทนทานเพิ่มขึ้น รวมทั้งอุตสาหกรรมทอผ้า อุตสาหกรรมแก้ว อุตสาหกรรมการแปรรูปไม้ และการถ่ายภาพ นอกจากนี้ยังใช้เป็นสารตกตะกอนในการบำบัดน้ำเสีย ใช้กำจัดโลหะหนัก และสารพิษโดยเฉพาะสารกัมมันตภาพรังสี นอกจากนี้ยังได้มีการนำไคโตซานไปช่วยจับสารกัมมันตรังสี ตลอดจนยังมีการนำไคโตซานมาผสมกับพลาสติกเพื่อใช้ในการผลิตพลาสติกที่สามารถย่อยสลายได้

2.6 คุณสมบัติของไคตินในการเป็นสารพรีไบโอติก และสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน

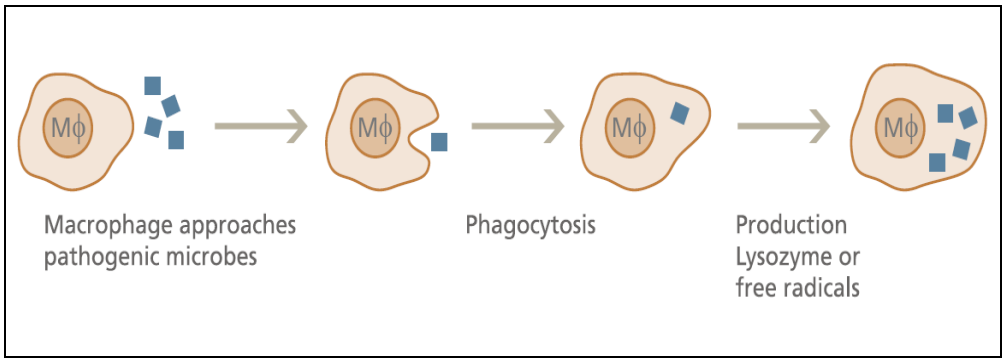
2.6.1 คุณสมบัติในการเป็นสารพรีไบโอติก

พรีไบโอติค เป็นส่วนประกอบของอาหารที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ในระบบทางเดินอาหารของคนหรือสัตว์ และมีประโยชน์ต่อคนและสัตว์ที่ได้รับอาหารนั้น โดยพรีไบโอติคจะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตหรือการทำงานของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่ และส่งผลให้สุขภาพของคนและสัตว์มีสุขภาพที่ดีขึ้น (Collins and Gibson, 1999) โดยพรีไบโอติกเป็นแหล่งสารอาหารสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ ทำให้จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์มีการเพิ่มจำนวนมากขึ้น และไปแย่งที่อยู่อาศัยกับจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ ส่งผลให้จุลินทรีย์ที่มีโทษมีจำนวนลดลง และใช้เป็นสารเสริมภูมิคุ้มกัน (Dlabac and Kawasaki, 1994) ซึ่งไคตินก็มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับพรีไบโอติกในการเป็นสารที่ไม่สามารถย่อยสลายได้โดยเอ็นไซม์จากระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์ แต่จะเป็นแหล่งสารอาหารสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่ ไคตินจึงเป็นสารอีกชนิดหนึ่งที่น่าสนใจในการเป็นสารพรีไบโอติกซึ่งมีประโยชน์ต่อสัตว์

ไคตินมีโมโนเมอร์เป็น *N*-acetylglucosamine ซึ่งสามารถใช้เป็นแหล่งของคาร์บอนเพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในบริเวณลำไส้ใหญ่ จากรายงานของ Chen, Chang, Mau, and Yen (2002) กล่าวว่าจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารสัตว์สามารถย่อยสลายไคตินหรือไคโตซานได้เป็นสาร Glucosamine, *N*-acetylglucosamine และ Oligomer ชนิดต่าง ๆ เพื่อใช้สารเหล่านี้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตของเซลล์จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ การเพิ่มขึ้นของจำนวนจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ เช่น *Bifidobacteria* spp. และ *Lactobacillus* spp. ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่นที่อยู่ในลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย และมีประโยชน์ทางอ้อมในการช่วยลดจำนวนของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค (Pathogenic bacteria) เนื่องจาก *Bifidobacteria* spp. และ *Lactobacillus* spp. จะผลิตกรดไขมันสายสั้น (Short chain fatty acid) ซึ่งมีผลช่วยควบคุมจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ เช่น *Clostidium perfringens*, *Salmonella* spp. และ *E. coli* กรดไขมันสายสั้นที่พบส่วนใหญ่จะเป็นกรดอะซิติก (Acitic acid) กรดแลคติก (Lactic acid) ซึ่งกรดไขมันเหล่านี้มีผลทำให้ค่า pH ลดลง ส่งผลไปยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เป็นโทษได้ สอดคล้องกับ Van der Wielen et al. (2000) ที่รายงานว่าการเพิ่มขึ้นของกรดไขมันสายสั้นชนิดโพรพิโอนิก และบิวทีริก ใน Digesta บริเวณลำไส้ส่วนซีกัมจะส่งผลต่อการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ชนิด *Salmonella* และ *E. coli* ได้ตามลำดับ จำนวนเชื้อจุลินทรีย์เป็นโทษที่ลดลงจะส่งผลโดยตรงกับปริมาณการผลิตแอมโมเนียในมูลของสัตว์ เนื่องจากแอมโมเนียเกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ ซึ่งการลดลงของจุลินทรีย์ให้โทษดังกล่าวเป็นผลทำให้ปริมาณแอมโมเนียในมูลของสัตว์ลดลง ซึ่งการที่สัตว์ปลดปล่อยแอมโมเนียปริมาณลดลงจะส่งผลดีต่อสภาพแวดล้อมอีกด้วย

2.6.2 คุณสมบัติในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน (Immune)

จากรายงานของ Okawa, Kobayashi, Suzuki, and Suzuki (2003) ที่พบว่าไคตินสามารถเพิ่มการทำงานของเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนซัยต์ (Monocyte) นิวโทรฟิลส์ (Neutrophil) และแมคโครฟาจ (Macrophage) ซึ่งเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนซัยต์มีคุณสมบัติในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย และหากมีปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนซัยต์อยู่ในช่วงที่สูงแต่ยังไม่เกินค่าในช่วงปกติ (2-6%) แสดงว่าเซลล์มีความสามารถต่อต้านสิ่งแปลกปลอมและเชื้อโรคได้เป็นอย่างดี (กนกธร ปิยธำรงรัตน์, 2546) นอกจากนั้นการเพิ่มของเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนซัยต์จะส่งผลกระตุ้นการทำงานของแมคโครฟาจให้เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพอยู่ตลอดเวลา ซึ่งเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการทำลาย และตรวจจับสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกายของเซลล์แมคโครฟาจควบคุมการหลั่ง Cytokines เช่น Interleukins เพื่อกระตุ้นการสื่อสารระหว่างเซลล์ต่าง ๆ ในระบบภูมิคุ้มกัน และช่วยกระตุ้นการหลั่ง Colony stimulating factors เพื่อเพิ่มปริมาณการสร้าง และการเจริญเติบโตของเม็ดเลือดขาว เช่น นิวโทรฟิวส์ และอีโอซิโนฟิลส์ (Eosinophils) จากไขกระดูก ซึ่งกระบวนการเหล่านี้เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพให้แก่เซลล์แมคโครฟาจในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่จะเข้ามาสู่ร่างกาย เมื่อแมคโครฟาจตรวจพบจุลินทรีย์ที่ก่อโรคหรือการติดเชื้อ เซลล์แมคโครฟาจจะทำการโอบล้อมเซลล์จุลินทรีย์ที่ก่อโรค และทำลายในที่สุด ซึ่งกระบวนการดังกล่าวเรียกว่า Phagocytosis โดยเซลล์แมคโครฟาจจะทำการฆ่าจุลินทรีย์ที่ก่อโรคหรือเชื้อโรคต่าง ๆ โดยการสร้าง Toxic free radicals หรือไลโซไซม์ (Lysozyme) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยสลายชั้น Peptidoglycan ของผนังเซลล์ของเซลล์จุลินทรีย์ ก่อให้เกิดการทำลายเมมเบรนของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคและเชื้อโรค ส่งผลให้เชื้อโรคถูกทำลาย ซึ่งกระบวนการทำงานของเซลล์แมคโครฟาจ แสดงดังภาพที่ 2.4



ภาพที่ 2.4 กลไกการทำงานของเซลล์แมคโครฟาจในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค
ที่มา: Anonymous, 2008

2.7 ข้อจำกัดของไคติน

ไคตินเป็นสารโพลิแซ็กคาไรด์ชนิดหนึ่ง ซึ่งไม่สามารถย่อยสลายได้โดยเอ็นไซม์ที่ผลิตจากระบบทางเดินอาหารสัตว์ เนื่องจากระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์ไม่สามารถผลิตเอ็นไซม์ที่ใช้ย่อยไคตินคือไคติเนส (Chitinase) (Jeuniaux and Cornelius, 1978) แต่เอ็นไซม์ดังกล่าวจะถูกผลิตโดยจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร ดังนั้นการมีไคตินในระดับที่สูงเกินไปในอาหารสัตว์จะส่งผลในการขัดขวางการย่อย และเป็นตัวจำกัดในการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ (Austin et al., 1981; Fanimo et al., 1996; Oduguwa et al., 2004; Khempaka, Mochizuki, Koh, and Karasawa, 2006; Khempaka, Koh, and Karasawa, 2006)

2.8 การศึกษาผลการใช้ไคตินในไก่เนื้อ

สารประกอบ *N*-acetylglucosamine ที่มีอยู่ในไคตินสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของ จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในบริเวณลำไส้ใหญ่ สร้างภูมิคุ้มกัน ลดโคเลสเตอรอล และเป็นสารที่ต่อต้าน การเกิดมะเร็ง (Tokoro et al., 1988; Shiau and Yu, 1998; Tsai, Wu, and Su, 2000; Okawa et al., 2003) ในช่วงทศวรรษที่ผ่านมาได้มีการนำไคติน (ในรูปของไคตินบริสุทธิ์) มาใช้เสริมในอาหารสัตว์ ซึ่งผลการใช้ไคตินในอาหารไก่เนื้อแสดงโดยละเอียดดังหัวข้อต่อไปนี้

2.8.1 การใช้ไคตินในอาหารไก่เนื้อต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต

การใช้ไคตินในอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ แสดงในตารางที่ 2.11 จากรายงานของ Ramachandran et al. (1987) พบว่าการใช้ไคตินในอาหารไก่เนื้อที่อายุ 0-60 วัน ในระดับ 0.5% สามารถเพิ่มน้ำหนักตัวของไก่เนื้อเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P<0.05$) Razden and Pettersson (1994) พบว่าการใช้ไคตินในอาหารไก่เนื้อที่อายุ 0-10 และ 0-18 วัน ในระดับ 3% ไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต สอดคล้องกับ Khempaka, Mochizuki, Koh, and Karasawa (2006) พบว่าการใช้ไคตินในอาหารไก่เนื้อที่อายุ 15-25 วัน ในระดับ 1.3-3.9% มีสมรรถนะการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม นอกจากนั้น Kobayashi, Chiba, Terashima, and Itoh (1996) พบว่าสามารถใช้ไคตินในอาหารไก่เนื้อที่อายุ 0-21 วัน ในระดับ 5% โดยไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของไก่เนื้อเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P>0.05$) Li et al. (2007) รายงานว่า Chitooligosacharide ซึ่งเป็น Oligosaccharide ของไคติน เมื่อนำมาใช้ในอาหารไก่เนื้อที่อายุ 0-42 วัน ในระดับ 50 มก./กก. สามารถเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อได้เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P>0.05$) แต่อย่างไรก็ตามมีนักวิจัยอีกหลายท่านได้รายงานว่า ไคตินเป็นตัวจำกัดการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ เนื่องจากไคตินในระดับสูงมีการย่อยได้ต่ำเมื่อนำมาใช้เลี้ยงสัตว์ (Austin et al., 1981; Fanimo et al., 1996; Oduguwa et al., 2004)

ตารางที่ 2.11 ผลการใช้ไคตินในอาหารไก่เนื้อต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต

Age	Chitin	Growth performance			References
(day)	(%)	Weight gain (g)	FI (g/bird)	FCR	
0-60	0 (I)	1,563^{B}	4,000	2.50	Ramachandran et
	0 (II)	1,560^{B}	3,980	2.50	al. (1987)
	0.5	1,725^{A}	4,200	2.38	
0-10	0	220^{a}	233^{a}	1.33^{a}	Razden and
	C-94	186^{b}	209^{b}	1.49^{a}	Pettersson (1994)
	C-82	181^{b}	207^{b}	1.52^{b}	
	C-76	193^{b}	216^{b}	1.45^{b}	
	3.0	219^{a}	236^{a}	1.35^{a}	
0-18	0	536^{a}	677^{a}	1.38^{a}	
	C-94	451^{b}	606^{b}	1.50^{b}	
	C-82	456^{b}	612^{b}	1.48^{bc}	
	C-76	482^{bc}	629^{b}	1.44^{ab}	
	3.0	523^{ac}	668^{a}	1.39^{ac}	
0-21	0	179	314	1.75	Kobayashi et al.
	5.0	180	329	1.83	(1996)
	KI 0.05 mg/kg	178	311	1.75	
	KI + Chitin	181	320	1.77	
15-25	0	707	1,030	1.45	Khempaka,
	1.3	641	970	1.51	Mochizuki, Koh,
	2.6	628	930	1.49	and Karasawa
	3.9	707	1,000	1.41	(2006)
0-42	0	1,986.6^{c}	4,107.6^{b}	2.07^{a}	Li et al. (2007)
	Chlortetracycline	2,079.0^{b}	4,187.4^{ab}	2.02^{ab}	
	COS 50 mg/kg	2,133.6^{a}	4,225.2^{a}	1.98^{b}	
	COS 100 mg/kg	2,104.2^{ab}	4,208.4^{a}	2.00^{b}	

หมายเหตุ: $^{a, b, c}$ และ $^{A, B}$ ในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05, 0.01$);
FI = Feed intake; FCR = Feed conversion ratio; C-94, C-82, C-76 diets containing chitin that was 94, 82 or 76% deacetylated respectively; COS = Chitooligosaccharide

2.8.2 การใช้ไคตินในอาหารไก่เนื้อต่อการย่อยได้ของโภชนะ

การใช้ไคตินในอาหารต่อการย่อยได้ของไก่เนื้อ แสดงในตารางที่ 2.12 จากรายงานของ Razden and Pettersson (1994) พบว่าไก่เนื้อที่ได้รับไคตินในอาหารที่ระดับ 3% ไม่ส่งผลกระทบต่อการย่อยได้ของแป้ง (Starch digestibility) แต่ลดการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน (Protein utilization) และสารอินทรีย์ (Organic matter digestibility) ในลำไส้เล็กส่วนต้น ส่วนการย่อยได้ในลำไส้เล็กส่วนปลาย พบว่าไคตินไม่ส่งผลกระทบต่อการย่อยได้ของแป้ง และไขมัน แต่ลดการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน และสารอนินทรีย์เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P<0.05$) สอดคล้องกับการทดลอง Khempaka, Mochizuki, Koh, and Karasawa (2006) พบว่าการใช้ไคตินในอาหารไก่เนื้อที่ระดับ 3.9% ส่งผลต่อการลดการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน และวัตถุแห้งตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามการใช้ไคตินในอาหารไก่เนื้อในระดับต่ำกว่า 3.9% ไม่ส่งผลกระทบต่อการย่อยได้ของโภชนะ นอกจากนั้น Li et al. (2007) รายงานว่าการเสริม Chitooligosacharide ซึ่งเป็น Oligosaccharide ของไคตินในอาหารไก่เนื้อที่อายุ 0-21 วัน ในระดับ 100 มม./กก สามารถเพิ่มการย่อยได้ของวัตถุแห้ง พลังงาน แคลเซียม และไม่ส่งผลกระทบต่อการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน อีกทั้งเมื่อพิจารณาผลตลอดการเลี้ยง (0-42 วัน) พบว่า Chitooligosacharide สามารถเพิ่มการย่อยได้ของโปรตีน และไม่ส่งผลกระทบต่อการย่อยได้ของวัตถุแห้ง พลังงาน และแคลเซียม จากข้อมูลจะเห็นได้ว่าการใช้ไคตินในสูตรอาหารในระดับที่สูง (3.0-3.9%) ส่งผลให้การใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน วัตถุแห้ง และสารอินทรีย์ลดลง เนื่องจากไคตินเป็นสารที่ย่อยไม่ได้หรือย่อยได้น้อยมากจากเอ็นไซม์ที่คัดหลั่งจากร่างกายสัตว์ โดยไคตินสามารถถูกย่อยโดยเอ็นไซม์ไคติเนส ซึ่งในระบบทางเดินอาหารไก่ผลิตได้น้อย (Jeuniaux and Cornelius, 1978) ซึ่งการมีไคตินในระดับสูงจึงเป็นการจำกัดการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ (Castro et al., 1989)

ตารางที่ 2.12 ผลการใช้ไคตินในอาหารไก่เนื้อต่อการย่อยได้ของโภชนะ

Age (day)	Chitin (%)	Duodenal digestibility (%)				References
		Starch	**Protein**	**fat**	**Organic matter**	
0-23	0	0.40[ab]	0.36[a]	-	0.30[a]	Razden and
	C-94	0.48[a]	0.29[ab]	-	0.30[a]	Pettersson
	C-76	0.42[a]	0.22[ab]	-	0.26[ab]	(1994)
	3.0	0.30[b]	0.14[b]	-	0.16[b]	
		Ileal digestibility				
		Starch	**Protein**	**fat**	**Organic matter**	
0-23	0	0.97	0.76[ac]	0.79[a]	0.77[a]	
	C-94	0.97	0.72[ab]	0.59[b]	0.72[b]	
	C-76	0.97	0.76[c]	0.59[b]	0.72[b]	
	3.0	0.97	0.71[b]	0.80[a]	0.73[b]	
		Apparent digestibility (%)				Khempaka,
		Dry matter	**Protein[1/]**	**Ash**	**Chitin**	Mochizuki, Koh,
15-25	0	76.1[a]	64.5[ab]	39.1	-	and Karasawa
	1.3	75.7[a]	61.2[c]	37.2	24.0	(2006)
	2.6	75.3[a]	62.0[abc]	40.1	19.1	
	3.9	73.1[b]	59.1[c]	37.6	18.4	
		Apparent digestibility (%)				Li et al. (2007)
		Dry matter	**Protein[1/]**	**Energy**	**Calcium**	
0-21	0	71.4[b]	68.5	76.5[b]	50.3[b]	
	Chlortetracycline	71.3[b]	67.3	77.2[b]	52.6[b]	
	COS 50 mg/kg	73.4[ab]	68.7	77.6[ab]	53.4[ab]	
	COS 100 mg/kg	76.8[a]	68.6	80.4[a]	59.4[a]	
0-42	0	73.2	51.1[b]	77.6	42.2[ab]	
	Chlortetracycline	72.1	51.5[b]	76.2	39.9[b]	
	COS 50 mg/kg	72.3	57.8[ab]	78.0	46.0[ab]	
	COS 100 mg/kg	73.3	59.7[a]	78.4	49.0[a]	

หมายเหตุ: [1/] Utilization, [a, b, c] ในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$), COS = Chitooligosaccharide

2.8.3 การใช้ไคตินในอาหารไก่เนื้อต่อประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ส่วนซีกัม

จากการที่ไคตินมี *N*-acetylglucosamine เป็นองค์ประกอบซึ่งสามารถใช้เป็นแหล่งของคาร์บอนเพื่อใช้กระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในบริเวณลำไส้ใหญ่ จากรายงานของ Chen et al. (2002) พบว่าจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารสัตว์สามารถทำการเข้าย่อยสลายไคติน หรือไคโตซานได้เป็นสาร Glucosamine, *N*-acetylglucosamine และ Oligomer ชนิดต่าง ๆ เพื่อใช้สารเหล่านี้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตของเซลล์จุลินทรีย์ จากตารางที่ 2.13 Li et al. (2007) รายงานว่า Chitooligosacharide ซึ่งเป็น Oligosaccharide ของไคติน เมื่อนำมาใช้ในอาหารไก่เนื้อในระดับ 100 มก./กก. สามารถเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ชนิดแลคโตบาซิลัส (*Lactobacillus* spp.) และลดจำนวนจุลินทรีย์ชนิดอีโคไล (*E. coli*) บริเวณลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม ($P<0.05$) ซึ่งจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารมีความสามารถในการผลิตกรดไขมันสายสั้นชนิดต่าง ๆ ได้ โดยกรดไขมันบางชนิดสามารถส่งผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโทษได้ ดังเช่นรายงานของ Van der Wielen et al. (2000) พบว่าการเพิ่มขึ้นของกรดไขมันสายสั้นชนิดโพรพิโอนิก และบิวทีริกบริเวณลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม ส่งผลต่อการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ชนิด *Salmonella* spp. และ *E. coli* ได้ตามลำดับ

ตารางที่ 2.13 ผลการใช้ไคตินในอาหารไก่เนื้อ ต่อประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม

Age (day)	Chitooligosaccharide	Microbial concentrations (log cfu/g of digesta)	
		***Lactobacillus* spp.**	***Escherichia coli***
0-21	0	5.59[b]	5.59
	Chlortetracycline	5.92[b]	5.94
	COS 50 mg/kg	5.86[b]	5.50
	COS 100 mg/kg	6.75[a]	5.49
0-42	0	7.13	6.20[a]
	Chlortetracycline	7.45	5.32[b]
	COS 50 mg/kg	7.43	5.67[ab]
	COS 100 mg/kg	7.13	5.42[b]

หมายเหตุ: [a, b] ในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$), COS = Chitooligosaccharide

ที่มา: Li et al., 2007

2.9 รายการอ้างอิง

กรมการค้าภายใน สำนักงานส่งเสริมการค้าสินค้าเกษตร (2550). **รายงานภาวะสินค้ากุ้ง: ประจำเดือนตุลาคม 2550** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.dit.go.th/agriculture/product/agri_9/agri_9_1050.pdf .

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2552). **รายงานภาวะเศรษฐกิจการเกษตรปี 2551 ภาพรวม กุ้ง** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.oae.go.th/download/document/shrimp51.pdf.

กนกธร ปิยธำรงรัตน์. (2546). **เนื้อเยื่อวิทยา**. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ.

นพวรรณ ฉิ้มสังข์ นิฟารีซา เจ๊ะเล๊าะ พรพิมล พิมลรัตน์ และ ชุติมา ตันติกิตติ. (2549). ผลของหัวกุ้งป่นในอาหารต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหารและสีของปลานิลแดงแปลงเพศ (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*). **ว. สงขลานครินทร์ วทท.** 28(5): 951-964.

ปรีชา กันทรากรกิติ. (2552). ภาพรวมอุตสาหกรรมอาหารของไทย (อุตสาหกรรมกุ้งของไทย). **ว. ธุรกิจอาหารสัตว์**. 26(124): 18-72.

สาโรช ค้าเจริญ. (2547). **อาหารและการให้อาหารสัตว์ไม่เคี้ยวเอื้อง**. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น: คลังนานาวิทยา.

Akiba, Y., Sato, K., Takahashi, Toyomizu, K. M., Matsushita, K., and Komiyama, H. (2001). Meat color of broiler chickens as affected by age and feeding of yeast phaffa rhodozyma containing high concentrations of astaxanthin. **J. Anim. Sci.** 72: 147-153.

Anonymous. (2008). **Beta-glucan and the immune system** [On-line]. Available. http://www.glucagel.com/immunesystem.pdf.

Austin, P. R., Brine, C. J., Castle, J. E., and Zikakis, J. P. (1981). Chitin: New facets of research. **Science.** 212: 898-904.

Berge, P. H., Culioli, J., and Ouali, A. (1993). Perfomance, muscle composition and meat texture in veal calves administered a ß-agonist (clenbuterol). **Meat Sci.** 33: 191-206.

Castro, G., Stoyan, N., and Myers, J. P. (1989). Assimilation efficiency in birds, a function of taxon and food type. **Comp. Biochem. Physiol.** 92A: 271-278.

Chen, H. C., Chang, C. C., Mau, W. J., and Yen, L. S. (2002). Evaluation of *N* -acetylchitooligosaccharides as the main carbon sources of the growth of intestinal bacteria. **FEMS Microbiol Lett.** 209: 53-56.

Collins, M. D., and Gibson, R. G. (1999). Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut1. **Am. J. Clin Nutr.** 69(suppl): 1052S-1057S.

Dlabac, V., and Kawasaki, N. (1994). Mannan-binding protein-like activity in the sera of newborn piglets. **Immunobiology.** 190: 399-410.

Fanimo, A. O., Mudama, E., Umukoro, T. O., and Oduguwa, O. O. (1996). Substitution of shrimp waste meal for fish meal in broiler chicken rations. **Trop. Agric. (Trinidad)** 73(2): 201-205.

Fanimo, A. O., Oduguwa, B. O., Oduguwa, O. O., Ajas, O. Y., and Jegede, O. (2004). Feeding value of shrimp meal for growing pig. **Arch. Zootec.** 53: 77-85.

Fanimo, A. O., Susenbeth, A., and Südekum, K. H. (2006). Protein utilisation, lysine bioavailability and nutrient digestibility of shrimp meal in growing pigs. **Anim. Feed Sci. Technol.** 129: 196-209.

Gernat, A. G. (2001). The effect of using different levels of shrimp meal in laying hen diets. **Poult. Sci.** 80: 633-636.

Hertrampf, J. W., and Piedad, P. F. (2000). **Handbook on Ingrediens for Aquaculture Feed.** Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

Ingweye, J. N., Okon, B. I., Ubua, J. A., and Essien, A. I. (2008). Performance of broiler chickens fed fish and shrimp wastes. **Asian J. Anim. Sci.** 2(2): 58-63.

Jeuniaux, C., and Cornelius, C. (1978). Distribution and activity of chitinolytic enzyme in the digestion tract of bird and mammals. **In Proceeding of the First International Conference on Chitin/Chitosan** (pp 542-549). R.A.A. Muzzarelli and E.R Pariser, ed. MIT Press, Cambridge, M. A.

Khempaka, S., Mochizuki, M., Koh, K., and Karasawa, Y. (2006). Effect of chitin in shrimp meal on growth performance and digestibility in growing broilers. **Poult. Sci.** 43: 339-343.

Khempaka, S., Koh, K., and Karasawa, Y. (2006). Effect of shrimp meal on growth performance and digestibility in growing broilers. **Poult. Sci.** 43: 250-254.

Kobayashi, S., Chiba, E., Terashima, Y., and Itoh, H. (1996). Effect of dietary crude chitin on thyroid function in chicks fed a low iodine diet. **Jpn. Poult. Sci.** 33: 73-79.

Li, X. J., Piao, X. S., Kim, S. W., Liu, P., Wang, L., Shen, Y. B., Jung, S. C., and Lee, H. S. (2007). Effects of chitooligosaccharide supplementation on performance, nutrient digestibility, and serum composition in broiler chickens. **Poult. Sci.** 86: 1107-1114.

Mahata, M. E., Dharma, A., Ryanto, H. I., and Rizal, Y. (2008). Effect of substituting shrimp waste hydrolysate of *Penaeus merguensis* for fish meal in broiler performance. **Pakistan J. Nutr.** 7(6): 806-810.

Mathur, N. K., and Narang, C. K. (1990). Chitin and chitosan, versatile polysaccharides from marine animal. **J. Chem Educ.** 67: 938-942.

Meyers, S. P., Rutledge, J. M., and Sonu, S. C. (1973). Variability in proximate analysis of different processed shrimp meals. **Feedstuffs**. 45: 34-35.

Mourya, V. K., and Inamdar, N. N. (2008). Chitosan-modifications and applications: Opportunities galore. **React Funct Polym.** 68: 1013-1051.

National Research Council. (1994). **Nutrient Requirements of Poultry** (9th ed.). National Academy Press. Washington D.C.

Ngoan, L. D., Lindberg, J. E., Ogle, B., and Thomke, S. (2000). Anatomical proportions and chemical and amino acid composition of common shrimp species in central vietnam. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.** 13: 1422-1428.

Oduguwa, O. O., Fanimo, A. O., Olayemi, V. O., and Oteri, N. (2004). The feeding value of sun-dried shrimp-waste meal based diets for starter and finisher broilers. **Arch. Zootec.** 53: 87-90.

Ojewola, G. S., and Udom, S. F. (2005). Chemical evaluation of the nutrient composition of some unconventional animal protein sources. **Poult. Sci.** 4(10): 745-747.

Okawa, Y., Kobayashi, M., Suzuki, S., and Suzuki, M. (2003). Comparative study protective effects of chitin, chitosan, and *N*-acetyl chitohexaose against *Pseudomonas aeruginosa* and *Listeria monocytogenes* infection in mice. **Biol. Pharm. Bull.** 26(6): 902-904.

Okoye, F. C., Ojewol, G. S., and Njoku-Onu, K. (2005). Evaluation of shrimp waste meal as a probable animal protein source for broiler chicken. **Int. J. Poult. Sci.** 4(5): 458-461.

Ramachandran, N. K. G., Mathew, P. T., Madhavan, P., and Prabhu, P. V. (1987). Chitin as a feed additive for broiler chicken. **Indian J. Poult. Sci.** 22(1): 40-44.

Razdan, A., and Pettersson, D. (1994). Effect of chitin and chitosan on nutritient digestibility and plasma lipid concentrations in broiler chickens. **British J. Nutr.** 74: 277-288.

Rosenfeld, D. J., Gernat, A. G., Marcano, J. D., Murillo, J. G., Lopez, G. H., and Flores, J. A. (1997). The effect of using different levels of shrimp meal in broiler diets. **Poult. Sci.** 76: 581-587.

Shiau, S. Y., and Yu, Y. P. (1998). Chitin but not chitosan supplementation enhances growth of grass shrimp, *Penaeus monodon.* **J. Nutr.** 128: 908-912.

Tokoro, A., Tatewaki, N., Suzuki, K., Mikami, T., Suzuki, S., and Suzuki, M. (1988). Growth-inhibitory effect of hexa-*N* –acetylchitohexaose and chitohexaose against Meth-A solid tumor. **Chem. Pharm. Bull.** 36: 784-790.

Tsai, G. S., Wu, Z. Y., and Su, W. H. (2000). Antibacterial activity of a chitooligosaccharide mixture prepared by cellulose digestion of shrimp chitosan and its application to milk preservation. **J. Food Prot.** 63: 747-752.

Uttaro, B. E., Ball, R. O., Dick, P., Rae, W., Vessie, G., and Jeremiah, L. E. (1993). Effect of ractopamine and sex on growth, carcass characteristics, processing yield, and meat quality characteristics of crossbred swine. **J. Anim. Sci.** 71: 2439-2449.

Van der Wielen, P. W. J. J., Biesterveld, S., Notermans, S., Hofstra, H., Urlings, B. A. P., and van Knapen, F. **(**2000). Role of volatile fatty acids in development of the cecal microflora in broiler chickens during growth. **Appl. Environ. Microbiol.** 66: 2536-2540.

บทที่ 3
การศึกษาผลของไคตินในเปลือกกุ้งเปรียบเทียบกับไคตินบริสุทธิ์ต่อคุณสมบัติในการเป็นสารพรีไบโอติกในไก่เนื้อ

3.1 คำนำ

ไคตินเป็นสารประกอบโฮโมโพลิแซ็กคาไรด์ของ *N*-acetylglucosamine ซึ่งพบมากในธรรมชาติรองจากเซลลูโลส สามารถพบได้ในโครงสร้างเปลือกนอกของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง โดยเฉพาะอย่างยิ่งส่วนที่เป็นเปลือกนอกของกุ้ง ปู และแกนปลาหมึก นอกจากนี้ยังพบในเปลือกนอกของแมลง ผนังเซลล์ของเห็ดรา และสาหร่ายบางสายพันธุ์ มีรายงานถึงสารประกอบ *N*-acetylglucosamine ที่มีอยู่ในไคตินสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในบริเวณลำไส้ใหญ่ จากรายงานของ Chen, Chang, Mau, and Yen (2002) กล่าวว่าจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารสัตว์สามารถย่อยสลายไคติน หรือไคโตซานได้เป็นสาร Glucosamine, *N*-acetylglucosamine และ Oligomer ชนิดต่าง ๆ เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตของเซลล์จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ และ Li et al. (2007) รายงานว่า Chitooligosacharide ซึ่งเป็น Oligosaccharide ของไคติน เมื่อนำมาใช้ในอาหารไก่เนื้อ สามารถเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ชนิดแลคโตบาซิลัส (*Lactobacillus* spp.) และลดจำนวนจุลินทรีย์ชนิดอีโคไล (*E. coli*) ในระบบทางเดินอาหาร นอกจากนั้น Okawa, Kobayashi, Suzuki, and Suzuki (2003) พบว่าไคตินสามารถเพิ่มการทำงานของเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนซัยต์ นิวโทรฟิลส์ และแมคโครฟาจ ซึ่งมีคุณสมบัติในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย จากคุณสมบัติดังกล่าว ไคตินจึงเป็นสารประกอบอีกตัวหนึ่งที่น่าสนใจในการศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการนำมาใช้เป็นพรีไบโอติค แต่อย่างไรก็ตามไคติน-ไคโตซานในรูปบริสุทธิ์มีราคาแพง และในกระบวนการสกัดเพื่อให้ได้มาซึ่งไคตินมีการใช้สารเคมีเข้ามาเกี่ยวข้องซึ่งจะก่อให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการใช้แหล่งของไคติน เช่น เปลือกนอกของกุ้ง ซึ่งมีอยู่แล้วตามธรรมชาติ จึงเป็นหนทางที่เหมาะสมในการใช้ประโยชน์จากสิ่งที่มีอยู่ในธรรมชาติให้เกิดประโยชน์สูงสุด และไม่ส่งผลกระทบหรือผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม อย่างไรก็ตามเพื่อเป็นการยืนยันผลของไคตินในเปลือกกุ้งว่ามาจากไคตินจริงหรือไม่ จึงควรทำการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างไคตินบริสุทธิ์ และไคตินจากเปลือกกุ้งในระดับเท่ากันด้วย ดังนั้นการทดลองครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของไคตินที่เป็นองค์ประกอบในเปลือกกุ้งเปรียบเทียบกับไคตินบริสุทธิ์ ต่อคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติก โดยศึกษาผลต่อการย่อยได้ของโภชนะ การกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน การปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์

ในระบบทางเดินอาหาร การผลิตกรดไขมันระเหยได้ และการผลิตแอมโมเนียในไก่เนื้อ

3.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาผลของไคตินที่เป็นองค์ประกอบในเปลือกกุ้งเปรียบเทียบกับไคตินบริสุทธิ์ต่อคุณสมบัติในการเป็นสารพรีไบโอติก ต่อการย่อยได้ของโภชนะ การกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน การเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร การผลิตกรดไขมันระเหยได้ และแอมโมเนียในไก่เนื้อ

3.3 อุปกรณ์และวิธีการ

3.3.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง

ใช้ไก่เนื้อสายพันธุ์ทางการค้า (Arbor Acers) เพศผู้ อายุ 1 วัน เลี้ยงจนถึงอายุ 5 วัน จึงสุ่มไก่จำนวน 54 ตัว ขึ้นกรงทดลองแบบขังเดี่ยว และทำการเลี้ยงบนกรงจนถึงอายุ 7 วัน เพื่อไก่จะได้ปรับตัวให้ชินกับสภาพแวดล้อม เมื่อไก่อายุ 8 วัน (นับเป็นวันที่ 1 ของการทดลอง) มีน้ำหนักตัวเฉลี่ย 182 กรัม ทำการจัดกลุ่มการทดลองออกเป็น 9 กลุ่ม ๆ ละ 6 ซ้ำ ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ไก่ในแต่ละหน่วยทดลองมีน้ำหนักตัวใกล้เคียงกัน การทดลองมีระยะเวลาทั้งหมด 28 วัน มีการให้น้ำและอาหารอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) โดยไก่ทุกตัวได้รับวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลและโรคหลอดลมอักเสบติดต่อ ที่อายุ 7 วัน และวัคซีนป้องกันโรคกัมโบโร ที่อายุ 14 วัน

3.3.2 การเตรียมเปลือกกุ้งป่น

เปลือกกุ้งป่นที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ได้มาจากบริษัทสินเจริญวารี ต.มหาชัย อ.เมือง จ.สมุทรสาคร ซึ่งเป็นกุ้งขาวป่น (*Litopenaeus vannamei)* ที่ผ่านการตากแดดให้แห้งและบดให้มีขนาดเล็กประมาณ 1.0 mm ก่อนนำเปลือกกุ้งป่นไปประกอบสูตรอาหารทดลอง ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี และกรดอะมิโนของเปลือกกุ้งตามวิธีของ AOAC (1998) โดยเครื่อง HPLC (Thermo Separation Products AS 3000, Freemont, CA, USA) ปริมาณไคตินทำการวัดตามวิธีของ Hornung and Stevenson (1971), ค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ (ME) ของเปลือกกุ้งป่นทำการวัดตามวิธีของ Sibbald (1976) องค์ประกอบทางโภชนะของเปลือกกุ้งป่นที่ใช้ในการทดลองได้แสดงในตารางที่ 3.1

3.3.3 การเตรียมอาหารทดลอง

การทดลองนี้เป็นการศึกษาไคตินที่เป็นองค์ประกอบในเปลือกกุ้งในไก่เนื้อ นอกจากนี้เพื่อเป็นการยืนยันว่าผลต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นมาจากไคตินจริงหรือไม่ จึงได้ทำการเสริมไคติน

กลุ่มที่ 1 : สูตรควบคุม (Control)
กลุ่มที่ 2 : เสริมเปลือกกุ้ง ที่ระดับ 5%
กลุ่มที่ 3 : เสริมเปลือกกุ้ง ที่ระดับ 10%
กลุ่มที่ 4 : เสริมเปลือกกุ้ง ที่ระดับ 15%
กลุ่มที่ 5 : เสริมเปลือกกุ้ง ที่ระดับ 20%
กลุ่มที่ 6 : เสริมไคตินบริสุทธิ์ ที่ระดับ 1.07%
กลุ่มที่ 7 : เสริมไคตินบริสุทธิ์ ที่ระดับ 2.26%
กลุ่มที่ 8 : เสริมไคตินบริสุทธิ์ ที่ระดับ 3.34%
กลุ่มที่ 9 : เสริมไคตินบริสุทธิ์ ที่ระดับ 4.53%

อาหารทดลองทุกสูตรคำนวณให้มีระดับของโปรตีน พลังงาน และโภชนะที่เพียงพอกับความต้องการของไก่เนื้อในแต่ละช่วงอายุตามคำแนะนำของ NRC (1994) โดยในสูตรอาหารได้ทำการคำนวณปริมาณโปรตีนของเปลือกกุ้งโดยแยกส่วนของไคตินออกเพื่อป้องกันการมีปริมาณโปรตีนที่ไม่เพียงพอต่อความต้องการของไก่ เนื่องจากไคตินเป็นโพลีแซคคาร์ไรด์ที่ไม่สามารถย่อยได้ ซึ่งจะส่งผลในการขัดขวางการย่อยและการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ นอกจากนั้นได้ปรับสัดส่วนของแคลเซียม และฟอสฟอรัสให้มีระดับที่เหมาะสม เนื่องจากในสูตรอาหารที่ใช้เปลือกกุ้งสูงขึ้นจะมีปริมาณแคลเซียมเพิ่มขึ้นตามปริมาณเปลือกกุ้ง ซึ่งอาจส่งผลลดสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ โดยองค์ประกอบของโภชนะในอาหารไก่เนื้อ แสดงดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.1 องค์ประกอบทางโภชนะของเปลือกกุ้งป่นจากการวิเคราะห์

Nutrient	(%)
Dry matter	97.78
Crude protein[1/]	39.69
Ether extract	10.52
Ash	23.67
Crude fiber	18.30
Calcium	5.62
Total phosphorus	1.25
Chitin	18.99
AME (kcal/ kg)	1,515
Amino acid (g/100g)	
Methionine	0.89
Cystine	0.13
Lysine	1.93
Arginine	2.79
Glycine	2.68
Histidine	1.04
Isoleucine	1.53
Leucine	2.54
Phenylalanine	2.11
Tyrosine	1.42
Threonine	1.81
Valine	1.94
Serine	1.97
Alanine	2.39
Aspartate	3.46
Glutamate+Glutamine	5.12
Proline	2.30

หมายเหตุ: [1/] Corrected crude protein = (total N-chitin N)*6.25

ตารางที่ 3.2 ส่วนประกอบของสูตรอาหารทดลอง

Ingredient (%)		Shrimp shell meal (%)				Purified chitin (%)			
	Control	**5**	**10**	**15**	**20**	**1.07**	**2.26**	**3.34**	**4.53**
Corn	52.92	45.80	42.46	38.08	28.11	38.92	34.00	29.46	24.56
Soybean meal (42 %CP)	35.15	30.15	25.15	20.15	15.15	37.70	37.91	38.06	38.49
Fish meal (54 %CP)	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Cassava starch	0.00	1.98	1.00	0.00	0.00	4.89	5.76	6.44	7.88
Rice bran	0.17	5.65	9.74	14.68	22.80	5.18	7.14	9.12	10.37
Shrimp meal	0.00	5.00	10.00	15.00	20.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Purified chitin	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.07	2.26	3.34	4.53
Soybean oil	4.50	4.86	5.69	6.63	8.08	4.98	5.67	6.32	6.91
Salt	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
DL-Methionine	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26
$CaCO_3$	1.20	0.60	0.30	0.00	0.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Ca_2PO_4	1.00	0.90	0.60	0.00	0.00	1.20	1.20	1.20	1.20
K_2HPO_4	0.00	0.00	0.00	0.40	0.80	0.00	0.00	0.00	0.00
Premix[1/]	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Calculated composition (%)									
AME, kcal/ kg	3,100	3,100	3,100	3,100	3,100	3,100	3,100	3,100	3,100
Met + Cys	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9
Lysine	1.2	1.1	1.1	1.1	1.1	1.2	1.2	1.2	1.2
Available P	0.5	0.5	0.5	0.6	0.8	0.5	0.5	0.5	0.5
Chitin	0.0	0.9	1.9	2.8	3.8	0.9	1.9	2.8	3.8
Analyzed composition (%)									
Dry matter	95.1	95.4	96.0	96.2	95.7	95.2	95.2	94.9	94.6
Crude protein	22.6	22.6	23.0	22.6	23.3	22.2	22.6	22.8	22.4
Fiber	3.8	4.8	6.1	7.5	8.1	4.0	3.8	4.5	4.5
Ether extract	7.6	8.5	9.7	10.2	14.0	7.1	8.8	10.6	10.0
Calcium	1.0	1.0	1.1	1.2	1.6	1.0	1.0	1.0	1.0
Total P	0.7	0.8	0.8	1.0	1.3	0.8	0.8	0.8	0.8

หมายเหตุ: [1/] Premix (1 kg) = Vitamin A, 15,000 IU; Vitamin D_3, 3,000 IU; Vitamin E, 25 IU; Vitamin K_3, 5 mg; Vitamin B_1, 2.5 mg; Vitamin B_2, 7 mg; Vitamin B_6, 4.5 mg; Vitamin B_{12}, 25 μ g; Pantothenic acid, 35 mg; Folic acid, 0.5 mg; Biotin, 25 μ g; Nicotinic acid, 35 mg; Choline chloride, 250 mg; Mn, 60 mg; Zn, 45 mg; Fe, 80 mg; Cu, 1.6 mg; I, 0.4 mg; Se, 0.15 mg.

3.4 การเก็บตัวอย่าง

3.4.1 การศึกษาการย่อยได้ (Digestibility)

หาการย่อยได้โดยวิธีการเก็บมูลทั้งหมด (Total collection) ที่ไก่ขับออกมาวันละ 1 ครั้ง ในเวลา 8.00 น. ในช่วง 4 วันสุดท้ายของการทดลอง โดยเก็บมูลในถาดพลาสติกที่รองไว้ใต้กรง โดยรองเพื่อเก็บมูลเป็นเวลา 24 ชั่วโมง สเปรย์มูลที่เก็บได้ในแต่ละวันด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 5% เพื่อป้องกันการสูญเสียไนโตรเจน และนำมูลของไก่แต่ละตัวที่ได้ในแต่ละวันไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 55 ºC นำมาบดใส่ถุงพลาสติกและเก็บไว้เพื่อรอการวิเคราะห์ทางเคมีต่อไป

% การย่อยได้สิ่งแห้ง = {(น้ำหนักอาหารที่กิน x น้ำหนักมูล)/น้ำหนักอาหารที่กิน} x 100

% การย่อยได้โภชนะ = {((น้ำหนักอาหารที่กิน x % โภชนะในอาหาร)-(น้ำหนักมูล x % โภชนะในมูล))/(น้ำหนักอาหารที่กิน x % โภชนะในอาหาร)} x 100

หมายเหตุ: น้ำหนักอาหารและมูลอยู่ในรูปน้ำหนักแห้ง

3.4.2 การศึกษาประชากรจุลินทรีย์ บริเวณลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (วันที่ 35) ทำการสุ่มไก่กลุ่มการทดลองละ 3 ตัว ทุกกลุ่มการทดลอง โดยไม่ต้องทำการอดอาหาร จากนั้นทำให้สลบ และฆ่า ทำการเก็บ Digesta บริเวณลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม โดยใส่ในภาชนะปลอดเชื้อ นำ Digesta แต่ละส่วนมาทำการเจือจางด้วย 0.85% NaCl เพื่อหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในแต่ละเชื้อโดยทำการเลือกระดับความเข้มข้นมา 2 ระดับ เพื่อนำไปใช้ในการตรวจนับเชื้อ โดยระดับความเข้มข้นของ Digesta บริเวณลำไส้เล็กที่เหมาะสมของเชื้อ *E. coli*, *Lactobacillus* spp. และ *Salmonella* spp. คือที่ระดับความเข้มข้น 10^3-10^4, 10^5-10^6 และ 5-10 เท่าตามลำดับ และบริเวณลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม มีระดับความเข้มข้น 10^4-10^5, 10^5-10^6 และ 5-10 เท่าตามลำดับ ซึ่งอาหารที่ใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อคัดเลือกเฉพาะ (Selective medium) เพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์ที่ต้องการให้เจริญได้เท่านั้น โดยนำตัวอย่างของเหลวมาตรวจนับเชื้อต่าง ๆ ในอาหารดังต่อไปนี้

E. coli เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MacCONKEY-Agar (MCK agar)

Salmonella spp. เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Xylose-Lysine Deoxycholate Agar (XLD agar)

Lactobacillus spp. เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Lactobacillus MRS Broth (MRS Broth)

3.4.3 การศึกษาปริมาณกรดไขมันระเหยได้ และแอมโนเนียบริเวณลำไส้เล็ก ลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม และมูล

ทำการเก็บมูลของไก่แต่ละกลุ่มทดลองเป็นรายตัวทุกสัปดาห์ (อายุ 14, 21, 28, 35 วัน) ประมาณ 10-20 กรัม เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนีย และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (วันที่ 35) ทำการสุ่มไก่กลุ่มการทดลองละ 3 ตัว โดยไม่ต้องทำการอดอาหาร จากนั้นทำให้สลบ และฆ่า ทำการเก็บ Digesta บริเวณลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม เพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนีย ตามวิธีของ Willis, Montgomery, and Allen (1996) และวิเคราะห์หาปริมาณ กรดไขมันระเหยได้ ตามวิธีของ Zdunczyk, Juskiewicz, Jankowski, Biedrzycka, and Koncicki (2005)

3.4.4 การศึกษาด้านภูมิคุ้มกัน

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (วันที่ 35) ทำการสุ่มไก่ทุกตัวในทุกกลุ่มการทดลอง เพื่อเจาะเลือดบริเวณเส้นเลือด Wing vein ใช้เข็มฉีดยาเบอร์ 23 ความยาว ½ นิ้ว กระบอกฉีดยาขนาด 3 มล. โดยแบ่งเลือดออกเป็น 3 ส่วน ส่วนที่ 1 เลือดที่ไม่มีสารป้องกันการแข็งตัว นำไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ความเร็ว 3,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4°C เก็บซีรัมเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณไลโซไซม์ (Lysozyme) ส่วนที่ 2 เลือดที่มีสารป้องกันการแข็งตัว ชนิด Ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA) นำไปปั่นเหวี่ยงเช่นเดียวกับส่วนที่ 1 เพื่อเก็บพลาสมาสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณอิมมูโนโกลบูลิน (Immunoglobulin) และส่วนที่ 3 เลือดที่มีสารป้องกันการแข็งตัว เก็บเลือดเพื่อวิเคราะห์หาค่าทางโลหิตวิทยา ได้แก่ จำนวนเม็ดเลือดแดง จำนวนเม็ดเลือดขาว และจำแนกชนิดเม็ดเลือดขาว และทำการเก็บเลือดเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณยูเรีย-ไนโตรเจนในเลือด (Blood urea-nitrogen, BUN) โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Anino and Giese (1976)

3.4.4.1 ปริมาณไลโซไซม์ในซีรัม

ตามวิธีของ Kreukniet, Nieuwl, and van der Zijpp (1994) โดยใช้ *Micrococcus lysodeikticus* เป็นเซลล์สับสเตรท (Substrate)

3.4.4.2 ปริมาณอิมมูโนโกลบูลิน

ใช้ชุดทดสอบ Total protein kit (Micro Lowry, Peterson's Modification)

3.4.4.3 วิเคราะห์หาค่าทางโลหิตวิทยา (Hematology)

ตรวจนับจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมด (Total red blood cell count)

โดยใช้วิธี Manual method (Unopette system) สารละลายที่ใช้คือ 0.85% NaCl อาศัยการเจือจางเลือดด้วยปิเปตต์นับเม็ดเลือด แล้วทำการนับบนแผ่นแก้วนับเม็ดเลือด (Hemacytometer) โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ และคำนวณตามวิธีของ Terry (1995)

ตรวจนับจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด (Total white blood cell count)

โดยใช้วิธี Manual method (Unopette system) สารละลายที่ใช้คือ 0.85% NaCl อาศัยการเจือจางเลือดด้วยปิเปตต์นับเม็ดเลือด แล้วทำการนับบนแผ่นแก้วนับเม็ดเลือด (Hemacytometer) โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ และคำนวณตามวิธีของ Terry (1995)

การจำแนกชนิดของเม็ดเลือดขาว

โดยนำแผ่นฟิล์มเลือดที่แห้งแล้วมาย้อมสี Giemsa- Wright's buffer โดยหยดสีย้อมให้ท่วมแผ่นฟิล์มเลือด หยดบัฟเฟอร์ จากนั้นหยดสีย้อมให้ท่วมแผ่นฟิล์มเลือดอีกครั้งวางทิ้งไว้ ล้างด้วยน้ำสะอาด ปล่อยทิ้งไว้ให้แห้ง นำแผ่นสไลด์มาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งชนิดของเม็เลือดขาวที่ตรวจนับประกอบด้วยลิมโฟซัยต์ (Lymphocyte), เฮทเทอโรฟิลส์ (Heterophil), โมโนซัยต์ (Monocyte), อีโอซิโนฟิล (Eosinophil) และบาโซฟิล (Basophil)

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวน (Analysis of variances, ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) และวิเคราะห์เพื่อเปรียบเทียบค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยในแต่ละปัจจัยการทดลองด้วยวิธี Duncan's new multiple range test และ Orthogonal contrast โดยใช้โปรแกรมสถิติสำเร็จรูป (SPSS, 2004)

3.6 สถานที่ทำการทดลอง

ฟาร์มมหาวิทยาลัย และอาคารเครื่องมือ 3 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.7 ระยะเวลาทำการทดลอง

ทำการทดลองในช่วงเดือน กันยายน ถึง พฤศจิกายน พ.ศ. 2551

3.8 ผลการทดลอง และการอภิปรายผล

3.8.1 ผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ต่อการย่อยได้ของโภชนะในไก่เนื้อ

การศึกษาผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ต่อการย่อยได้ของโภชนะในไก่เนื้อที่อายุ 32-35 วัน ดังแสดงในตารางที่ 3.3 พบว่าไก่เนื้อในกลุ่มที่ได้รับไคตินจากเปลือกกุ้งทุกระดับ (5-20%) และไคตินบริสุทธิ์ที่ระดับ 1.07 และ 2.26% ไม่ส่งผลกระทบต่อการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน (Crude protein utilization) แต่การใช้ไคตินบริสุทธิ์ที่ระดับ 3.34 และ 4.53% มีผลลดการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน และไก่เนื้อที่ได้รับไคตินบริสุทธิ์ที่ระดับ 2.26% มีผลเพิ่มการย่อยได้

ตารางที่ 3.3 ผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ ต่อการย่อยได้ของโภชนะในไก่เนื้ออายุ 32-35 วัน

Diets	Nutrient digestibility (%)				
	Dry matter	Crude protein[1/]	Ash	Organic matter	Chitin
Control	77.40	56.45[a]	43.63[bc]	80.25	-
Shrimp shell meal 5%	78.44	55.95[a]	45.93[abc]	81.08	32.38[a]
Shrimp shell meal 10%	79.93	54.74[a]	49.87[abc]	82.51	30.07[ab]
Shrimp shell meal 15%	78.41	50.91[ab]	53.16[ab]	80.97	29.28[ab]
Shrimp shell meal 20%	79.08	50.89[ab]	41.18[bc]	82.69	28.81[ab]
Chitin 1.07%	76.29	54.67[a]	39.45[bc]	80.03	29.30[ab]
Chitin 2.26%	82.08	50.98[ab]	57.70[a]	84.30	28.92[ab]
Chitin 3.34%	77.14	47.50[b]	44.11[abc]	80.19	27.54[b]
Chitin 4.53%	73.59	48.38[b]	37.49[c]	77.09	26.59[b]
Orthogonal contrast					
1 VS 2-9	NS	0.019	NS	NS	-
1 VS 2-5	NS	NS	NS	NS	-
1 VS 6-9	NS	0.005	NS	NS	-
2,3,4,5 VS 6,7,8,9	NS	0.049	NS	NS	0.018
2 VS 6	NS	NS	NS	NS	NS
3 VS 7	NS	NS	NS	NS	NS
4 VS 8	NS	NS	NS	NS	NS
5 VS 9	NS	NS	NS	NS	NS
SEM	1.63	1.81	4.14	1.47	1.10
P-value	0.082	0.007	0.039	0.113	0.042

หมายเหตุ: SEM = Standard error of the mean; NS = Not significant (P>0.05); [a, b, c] ในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ; [1/]Crude protein utilization; 1, 2, 3, 4, 5 หมายถึง เปลือกกุ้งระดับ 0, 5, 10, 15, 20% และ 6, 7, 8, 9 หมายถึง ไคตินบริสุทธิ์ระดับ 1.07, 2.26, 3.34, 4.53% ตามลำดับ

3.8.2 ผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ต่อประชากรจุลินทรีย์

การศึกษาผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ต่อประชากรจุลินทรีย์ ใน Digesta บริเวณลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัมในไก่เนื้อที่อายุ 35 วัน โดยทำการเก็บ Digesta จากไก่เนื้อที่อายุ 35 วัน ดังแสดงในตารางที่ 3.4 พบว่าการใช้ไคตินจากเปลือกกุ้งในอาหารไก่เนื้อมี

ผลลดประชากรจุลินทรีย์ *E. coli*, *Salmonella* spp. และเพิ่ม *Lactobacillus* spp. โดยการใช้ไคตินจากเปลือกกุ้งในอาหารไก่เนื้อที่ระดับ 10 และ 15% มีผลลดประชากรจุลินทรีย์ *E. coli* ใน Digesta บริเวณลำไส้เล็ก ($P<0.01$) และการใช้ไคตินจากเปลือกกุ้งที่ระดับ 10% มีผลเพิ่มประชากรจุลินทรีย์ *Lactobacillus* ใน Digesta บริเวณลำไส้เล็ก สามารถลด *Salmonella* spp. ใน Digesta บริเวณลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P<0.05$) แต่ไม่พบความแตกต่างของประชากรจุลินทรีย์ ในไก่เนื้อที่ได้รับไคตินบริสุทธิ์ทุกระดับ ($P>0.05$) ในขณะที่ประชากรจุลินทรีย์ *Salmonella* spp. ใน Digesta บริเวณลำไส้เล็ก *E. coli* และ *Lactobacillus* spp. ใน Digesta บริเวณลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม ของไก่เนื้อที่ได้รับ ไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ ไม่แตกต่างกันในทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P>0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ พบว่าไก่เนื้อที่ได้รับไคตินจากเปลือกกุ้งมีประสิทธิภาพในการลดจุลินทรีย์ที่มีโทษ และเพิ่มจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ได้ดีกว่าไคตินบริสุทธิ์ ($P<0.01$) ทั้งนี้การเพิ่มขึ้นของจำนวน จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ชนิด*Lactobacillus* spp. และ *Bifidobacteria* spp. ซึ่งเป็น Normal flora ที่อยู่ในลำไส้ส่วนปลาย และมีประโยชน์ทางอ้อมในการช่วยลดจำนวนของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (Pathogenic bacteria) เนื่องจาก *Lactobacillus* spp. และ *Bifidobacteria* spp. จะผลิตกรดไขมันสายสั้น (Short chain fatty acid) ซึ่งมีผลช่วยควบคุมจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและควบคุมจำนวนของ Normal flora กรดไขมันสายสั้นที่พบส่วนใหญ่จะเป็นกรดอะซิติก และกรดแลคติก ซึ่งกรดไขมันเหล่านี้มีผลให้ค่า pH ลดลง ส่งผลไปยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Clostidium perfringens*, *Salmonella* spp. และ *E. coli* ในลำไส้ ดังเช่นรายงานของ Fu, Xu, and Gao (1999) พบว่าจุลินทรีย์ชนิด *Lactobacillus* มีความสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์มีโทษชนิด *E. coli* ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองครั้งนี้ที่พบว่าการใช้ไคตินจากเปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อ สามารถเพิ่มจุลินทรีย์มีประโยชน์ชนิด *Lactobacillus* spp. และลดจุลินทรีย์มีโทษชนิด *E. coli* (ตารางที่ 3.4) สอดคล้องกับ Chen, Chang, Mau, and Yen (2002) ที่รายงานว่าจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารสัตว์จะสามารถทำการเข้าสลายไคตินหรือไคโตซานได้เป็นสาร Glucosamine, *N*-acetylglucosamine และ Oligomer ชนิดต่าง ๆ เพื่อใช้สารเหล่านี้เป็นแหล่งอาหารในการเจริญเติบโตของเซลล์จุลินทรีย์ เช่นเดียวกับ Li et al. (2007) ที่พบว่า Chitooligosacharide ซึ่งเป็น Oligosaccharide ของไคติน เมื่อนำมาใช้ในอาหารไก่เนื้อที่อายุ 0-21 วัน ในระดับ 100 มก./กก. สามารถเพิ่มจำนวน *Lactobacillus* spp. ใน Digesta บริเวณ ลำไส้ส่วนปลาย และการใช้ Chitooligosacharide ในระดับ 100 มก./กก ในอาหารไก่เนื้ออายุ 0-42 วัน สามารถลดจำนวน *E. coli* ใน Digesta บริเวณลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัมเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P<0.05$)

ตารางที่ 3.4 ผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ต่อประชากรจุลินทรีย์ ใน Digesta บริเวณลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัมของไก่เนื้อที่อายุ 35 วัน

Diets	Small intestine (log CFU/g)			Cecum (log CFU/g)		
	E. coli	*Lactobacillus* spp.	*Salmonella* spp.	*E. coli*	*Lactobacillus* spp.	*Salmonella* spp.
Control	6.41[a]	6.95[bc]	2.72	7.09	9.17	3.33[abc]
Shrimp shell meal 5%	6.06[a]	7.35[ab]	2.67	6.86	8.49	3.12[bcd]
Shrimp shell meal 10%	4.51[b]	7.82[a]	1.97	6.91	8.60	2.73[d]
Shrimp shell meal 15%	4.32[b]	6.35[c]	2.28	6.76	8.32	2.88[cd]
Shrimp shell meal 20%	6.54[a]	7.53[ab]	3.17	7.25	9.06	3.02[bcd]
Chitin 1.07%	6.80[a]	7.51[ab]	2.64	7.31	8.59	3.15[bcd]
Chitin 2.26%	6.04[a]	7.40[ab]	2.14	7.29	8.43	3.68[a]
Chitin 3.34%	6.86[a]	7.47[ab]	2.58	7.80	8.36	3.12[bcd]
Chitin 4.53%	6.32[a]	7.47[ab]	2.94	7.24	8.41	3.43[ab]
Orthogonal contrast						
1 VS 2-9	NS	NS	NS	NS	NS	NS
1 VS 2-5	0.003	NS	NS	NS	NS	0.016
1 VS 6-9	NS	NS	NS	NS	NS	NS
2,3,4,5 VS 6,7,8,9	0.001	NS	NS	NS	NS	0.002
2 VS 6	NS	NS	NS	NS	NS	NS
3 VS 7	0.001	NS	NS	NS	NS	0.001
4 VS 8	0.001	0.004	NS	NS	NS	NS
5 VS 9	NS	NS	NS	NS	NS	NS
SEM	0.22	0.24	0.19	0.52	0.24	0.12
P-value	0.001	0.023	0.060	0.926	0.211	0.018

หมายเหตุ: SEM = Standard error of the mean; NS = Not significant (P>0.05); [a, b, c, d] ในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ; 1, 2, 3, 4, 5 หมายถึง เปลือกกุ้งระดับ 0, 5, 10, 15, 20% และ 6, 7, 8, 9 หมายถึง ไคตินบริสุทธิ์ระดับ 1.07, 2.26, 3.34, 4.53% ตามลำดับ; CFU หมายถึง Colony forming unit

3.8.3 ผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ต่อปริมาณกรดไขมันระเหยได้

การศึกษาผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ต่อปริมาณกรดไขมันระเหยได้ใน Digesta บริเวณลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัมของไก่เนื้อที่อายุ 8-35 วัน โดยทำการเก็บ Digesta จากไก่เนื้อที่อายุ 35 วัน ดังแสดงในตารางที่ 3.5 พบว่าการใช้ไคตินจากเปลือกกุ้งในอาหาร

ตารางที่ 3.5 ผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ต่อปริมาณกรดไขมันระเหยได้ในลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัมของไก่เนื้ออายุ 35 วัน

Diets	Volatile fatty acids (µmol/g)		
	Acetic acid	Propionic acid	Butyric acid
Control	5.24	1.29	10.43[c]
Shrimp shell meal 5%	5.67	1.47	12.40[abc]
Shrimp shell meal 10%	6.45	2.22	14.77[ab]
Shrimp shell meal 15%	6.26	2.13	15.94[a]
Shrimp shell meal 20%	5.47	1.64	10.58[bc]
Chitin 1.07%	5.49	1.48	10.54[bc]
Chitin 2.26%	6.05	1.50	13.16[abc]
Chitin 3.34%	5.85	1.34	10.03[c]
Chitin 4.53%	7.28	1.27	10.24[c]
Orthogonal contrast			
1 VS 2-9	NS	NS	NS
1 VS 2-5	NS	NS	0.049
1 VS 6-9	NS	NS	NS
2,3,4,5 VS 6,7,8,9	NS	NS	0.017
2 VS 6	NS	NS	NS
3 VS 7	NS	NS	NS
4 VS 8	NS	NS	0.004
5 VS 9	NS	NS	NS
SEM	0.78	0.41	1.26
P-value	0.726	0.673	0.029

หมายเหตุ: SEM = Standard error of the mean; NS = Not significant (P>0.05); [a, b, c] ในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ; 1, 2, 3, 4, 5 หมายถึง เปลือกกุ้งระดับ 0, 5, 10, 15, 20% และ 6, 7, 8, 9 หมายถึง ไคตินบริสุทธิ์ระดับ 1.07, 2.26, 3.34, 4.53% ตามลำดับ

3.8.4 ผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ต่อปริมาณแอมโมเนีย

การศึกษาผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ต่อปริมาณแอมโมเนียใน Digesta บริเวณลำไส้เล็ก ลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม และในมูลของไก่เนื้อที่อายุ 8-35 วัน ดังแสดงในตารางที่ 3.6 การใช้ไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ ในอาหารเป็นระยะเวลา 14, 21, 28 และ 35 วัน จากการทดลองพบว่าในไก่เนื้อที่อายุ 21 วันเมื่อได้รับไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ทุกระดับสามารถลดแอมโมเนียในมูล เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P<0.01$) และในไก่เนื้อที่อายุ 28 วัน พบว่าการได้รับไคตินบริสุทธิ์ทุกระดับมีผลลดแอมโมเนียในมูล แต่ไม่พบความแตกต่างดังกล่าวในไก่เนื้อที่ได้รับไคตินจากเปลือกกุ้งทุกระดับ ยกเว้นที่ระดับ 20% เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P<0.01$) และการได้รับไคตินจากเปลือกกุ้งที่ระดับ 5, 10, 15% และไคตินบริสุทธิ์ที่ระดับ 1.07 และ 4.53% มีผลลดการผลิตแอมโมเนียใน Digesta บริเวณลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P<0.01$) สำหรับการผลิตแอมโมเนียในมูลของไก่เนื้ออายุ 14 และ 35 วัน และใน Digesta บริเวณลำไส้เล็ก พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ทั้งในไก่เนื้อที่ได้รับไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารควบคุม ($P>0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างไคตินจากเปลือกกุ้งและไคตินบริสุทธิ์ พบว่าไก่เนื้อที่ได้รับไคตินบริสุทธิ์ มีประสิทธิภาพในการลดการผลิตแอมโมเนียดีกว่าไคตินจากเปลือกกุ้ง ($P<0.05$) ซึ่งการผลิตแอมโมเนียดังกล่าวมีผลเชื่อมโยงจากจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร โดยการผลิตแอมโมเนียในมูล และระบบทางเดินอาหารของสัตว์เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ที่เป็นโทษในระบบทางเดินอาหาร ดังรายงานของ Vince and Burridge (1980) พบว่าจุลินทรีย์ชนิด *Clostridia* spp. และ *Enterobacteria* spp. มีการผลิตแอมโมเนียในปริมาณสูงบริเวณลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม ซึ่งจากตารางที่ 3.4 พบว่าการใช้ไคตินจากเปลือกกุ้งในอาหารไก่เนื้อมีผลลดจุลินทรีย์ให้โทษชนิด *E. coli* และ *Salmonella* spp. ซึ่งการลดลงของจุลินทรีย์ให้โทษดังกล่าวเป็นผลทำให้ปริมาณแอมโมเนียในลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัมและมูลลดลง นอกจากนั้นสาเหตุการผลิตแอมโมเนียที่ลดลงอาจเกิดจากผลของไคโตซานโดยตรงในการจับกับแอมโมเนีย เนื่องจากจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารจะเข้าย่อยหมู่ *N*-acetylglucosamine ของไคตินเพื่อนำมาเป็นแหล่งอาหาร ส่งผลให้ไคตินถูกเปลี่ยนรูปเป็นไคโตซาน ซึ่งมีสมบัติในการเป็นประจุ จึงสามารถเข้าจับกับแอมโมเนียในระบบทางเดินอาหาร และเปลี่ยนเป็นไนเตรท

ตารางที่ 3.6 ผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ต่อปริมาณแอมโมเนียในมูล ลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัมของไก่เนื้ออายุ 8-35 วัน

Diets	Excreta (g/100g of DM)				Digesta (g/100g)	
	14 day	21 day	28 day	35 day	Small intestine	Cecum
Control	5.08	3.33[a]	3.15[a]	3.00	0.16	1.14[a]
Shrimp shell meal 5%	4.71	2.75[b]	3.08[a]	2.89	0.16	0.70[cd]
Shrimp shell meal 10%	4.86	2.55[bc]	2.83[a]	2.75	0.16	0.54[d]
Shrimp shell meal 15%	4.45	2.73[b]	2.77[a]	2.68	0.13	0.67[cd]
Shrimp shell meal 20%	4.82	2.04[cd]	2.25[b]	2.63	0.16	0.99[ab]
Chitin 1.07%	4.60	1.76[d]	2.23[b]	2.91	0.15	0.84[bc]
Chitin 2.26%	4.54	2.24[bcd]	2.15[b]	2.78	0.16	0.99[ab]
Chitin 3.34%	4.90	1.91[d]	2.07[b]	2.74	0.16	0.94[ab]
Chitin 4.53%	4.92	1.67[d]	2.12[b]	2.75	0.15	0.67[cd]
Orthogonal contrast						
1 VS 2-9	NS	0.001	0.001	NS	NS	0.001
1 VS 2-5	NS	0.0001	0.001	NS	NS	0.001
1 VS 6-9	NS	0.001	0.007	NS	NS	0.002
2,3,4,5 VS 6,7,8,9	NS	0.001	0.001	NS	NS	0.023
2 VS 6	NS	0.001	0.001	NS	NS	NS
3 VS 7	NS	NS	0.001	NS	NS	0.001
4 VS 8	NS	0.002	0.001	NS	NS	0.023
5 VS 9	NS	NS	NS	NS	NS	0.010
SEM	0.48	0.18	0.13	0.10	0.02	0.03
P-value	0.992	0.001	0.001	0.371	0.949	0.001

หมายเหตุ: SEM = Standard error of the mean; NS = Not significant (P>0.05); [a, b, c, d, e] ในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ; 1, 2, 3, 4, 5 หมายถึง เปลือกกุ้งระดับ 0, 5, 10, 15, 20% และ 6, 7, 8, 9 หมายถึง ไคตินบริสุทธิ์ระดับ 1.07, 2.26, 3.34, 4.53% ตามลำดับ

3.8.5 ผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ต่อปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือด และค่าทางโลหิตวิทยา

การศึกษาผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ต่อปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือด (BUN) และค่าทางโลหิตวิทยาของไก่เนื้อที่อายุ 35 วัน ดังแสดงในตารางที่ 3.7 พบว่าการใช้ไคตินจากเปลือกกุ้งที่ระดับ 15% มีผลลดปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือด (BUN) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P<0.01$) และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ พบว่าไก่เนื้อที่ได้รับสูตรอาหารที่ใช้ไคตินจากเปลือกกุ้งมีปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดต่ำกว่าสูตรอาหารที่ใช้ไคตินบริสุทธิ์ ($P<0.01$) ในขณะที่ค่าทางโลหิตวิทยาซึ่งได้แก่ จำนวนเม็ดเลือดแดง (RBC), จำนวนเม็ดเลือดขาว (WBC) และเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนซัยต์ อีโอสิโนฟิลส์ บาโซฟิลส์ เฮทเทอโรฟิลส์ ลิมโฟซัยต์ และสัดส่วนเฮทเทอโรฟิลส์ต่อลิมโฟซัยต์ (H/L ratio) ทั้งในไก่เนื้อที่ได้รับไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม ($P>0.05$) โดยปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดเป็นสิ่งที่บ่งบอกถึงความสมดุลของกรดอะมิโนในอาหารที่ตรงตามความต้องการของสัตว์ หากในอาหารมีปริมาณกรดอะมิโนที่ไม่สมดุลร่างกายจะขับออกในรูปของยูเรีย ส่งผลให้ปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดเพิ่มขึ้น (Kumta and Harper, 1961; Ranjihan, 1980) โดยปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดที่ลดลง อาจเกิดจากค่าการย่อยได้ของกรดอะมิโนจำเป็นในสูตรอาหาร ซึ่งเมื่อคำนวณการย่อยได้ของกรดอะมิโนในสูตรอาหาร พบว่าสูตรอาหารที่ใช้เปลือกกุ้งป่นในระดับ 10 และ 15% มีสัดส่วนการย่อยได้ของกรดอะมิโนที่จำเป็นใกล้เคียงกับความต้องการของสัตว์ตามคำแนะนำของ NRC (1994) และอีกสาเหตุที่มีผลทำให้ปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดลดลง อาจเกิดจากกรดอะมิโนจากเปลือกกุ้งป่นเข้ามามีบทบาทช่วยเพิ่มความสมดุลกรดอะมิโนในสูตรอาหาร จึงทำให้ไก่เนื้อที่ได้รับสูตรอาหารดังกล่าวมีปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดที่ลดลง ($P<0.05$) นอกจากนี้พบว่าค่าทางโลหิตวิทยาของไก่เนื้ออยู่ในช่วงปกติ โดยกนกธร ปิยธำรงรัตน์ (2546) รายงานว่าสัดส่วนของเม็ดเลือดขาวชนิด Monocyte, Eosinophil, Basophil, Heterophil และ Lymphocyte มีค่าเท่ากับ 2-6%, 1-6%, <1%, 40-75% และ 20-45% ตามลำดับ และยังพบว่าการใช้เปลือกกุ้งป่นที่ระดับต่าง ๆ ไม่ส่งผลกระทบต่อค่า H/L ratio ซึ่งเป็นตัวบ่งบอกถึงสภาวะการเกิดความเครียดของสัตว์

ตารางที่ 3.7 ผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ต่อปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือด และค่าทางโลหิตวิทยาของไก่เนื้ออายุ 35 วัน

Diets	BUN (mg/dl)	RBC ($x10^6/mm^3$)	WBC ($x10^4/mm^3$)	Monocyte (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)	Heterophil (%)	Lymphocyte (%)	H/L ratio
Control	2.15^{ab}	2.21	1.16	3.00	1.80	4.20	42.80	48.20	0.90
Shrimp shell meal 5%	2.03^{abc}	2.51	1.17	2.80	1.80	3.60	44.00	46.60	0.95
Shrimp shell meal 10%	1.97^{bc}	2.39	1.30	3.00	2.17	3.83	43.17	47.83	0.90
Shrimp shell meal 15%	1.87^{c}	2.51	1.22	3.17	2.33	4.33	41.67	48.83	0.85
Shrimp shell meal 20%	2.09^{ab}	2.52	1.47	2.83	2.67	4.50	41.67	48.33	0.86
Chitin 1.07%	2.17^{a}	2.61	1.84	3.60	2.00	3.80	41.80	48.80	0.86
Chitin 2.26%	2.11^{ab}	2.44	1.48	3.00	2.40	3.60	43.20	47.80	0.91
Chitin 3.34%	2.03^{abc}	2.31	1.31	2.67	2.00	3.17	43.33	49.17	0.88
Chitin 4.53%	2.17^{a}	2.36	1.48	2.17	2.67	3.83	44.83	47.17	0.96
Orthogonal contrast									
1 VS 2-9	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
1 VS 2-5	0.032	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
1 VS 6-9	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
2,3,4,5 VS 6,7,8,9	0.004	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
2 VS 6	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
3 VS 7	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
4 VS 8	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
5 VS 9	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
SEM	0.05	0.17	0.15	0.39	0.37	0.39	0.86	0.95	0.02
P-value	0.015	0.852	0.121	0.485	0.605	0.389	0.274	0.817	0.588

หมายเหตุ: SEM = Standard error of the mean; NS = Not significant (P>0.05); $^{a, b, c}$ ในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ; 1, 2, 3, 4, 5 หมายถึง เปลือกกุ้งระดับ 0, 5, 10, 15, 20% และ 6, 7, 8, 9 หมายถึง ไคตินบริสุทธิ์ระดับ 1.07, 2.26, 3.34, 4.53% ตามลำดับ; BUN = Blood urea nitrogen; RBC = Red blood cell; WBC = White blood cell; H/L ratio = Heterophil/Lymphocyte ratio

3.8.6 ผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ต่อปริมาณไลโซไซม์ และอิมมูโนโกลบูลิน

การศึกษาผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ต่อปริมาณไลโซไซม์และอิมมูโนโกลบูลินของไก่เนื้อที่อายุ 35 วัน ดังแสดงในตารางที่ 3.8 พบว่าการใช้ไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ทุกระดับ ไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณไลโซไซม์ และอิมมูโนโกลบูลินในไก่เนื้อ

ตารางที่ 3.8 ผลของไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ในอาหาร ต่อปริมาณไลโซไซม์และอิมมูโนโกลบูลินของไก่เนื้ออายุ 35 วัน

Diets	**Lysozyme content** (μg/ml)	**Total Immunoglobulin** (mg/dl)
Control	6.08	1.76
Shrimp shell meal 5%	6.93	1.76
Shrimp shell meal 10%	6.70	1.75
Shrimp shell meal 15%	6.67	1.81
Shrimp shell meal 20%	7.16	1.75
Chitin 1.07%	7.01	1.76
Chitin 2.26%	7.13	1.74
Chitin 3.34%	6.95	1.73
Chitin 4.53%	6.62	1.78
Orthogonal contrast		
1 VS 2-9	NS	NS
1 VS 2-5	NS	NS
1 VS 6-9	NS	NS
2,3,4,5 VS 6,7,8,9	NS	NS
2 VS 6	NS	NS
3 VS 7	NS	NS
4 VS 8	NS	NS
5 VS 9	NS	NS
SEM	0.54	0.12
P-value	0.925	0.648

หมายเหตุ: SEM = Standard error of the mean; NS = Not significant (P>0.05); 1, 2, 3, 4, 5 หมายถึงเปลือกกุ้งระดับ 0, 5, 10, 15, 20% และ 6, 7, 8, 9 หมายถึง ไคตินบริสุทธิ์ระดับ 1.07, 2.26, 3.34, 4.53% ตามลำดับ

3.9 สรุปผลการทดลอง

การใช้ไคตินจากเปลือกกุ้ง และไคตินบริสุทธิ์ในอาหารไก่เนื้อ ไม่ส่งผลกระทบต่อค่าการย่อยได้ของ วัตถุแห้ง เถ้า สารอินทรีย์ ค่าการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันระเหยได้ชนิดกรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก ค่าทางโลหิตวิทยา และการตอบสนองภูมิคุ้มกัน แต่การใช้ไคตินจากเปลือกกุ้งมีคุณสมบัติที่ดีกว่าไคตินบริสุทธิ์ ในการไม่ส่งผลกระทบต่อการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน และการใช้ไคตินจากเปลือกกุ้งป่นสามารถลดจุลินทรีย์ให้โทษชนิด *E. coli* และ *Salmonella* spp. การเพิ่มกรดไขมันระเหยได้ชนิดกรดบิวทีริก และสามารถลดการผลิตแอมโมเนียได้ ดังนั้นเปลือกกุ้งป่นจึงเป็นวัตถุดิบแหล่งโปรตีนทางเลือกที่สามารถนำมาใช้ในอาหารไก่เนื้อได้ ซึ่งนอกจากจะได้โปรตีนจากเปลือกกุ้งแล้ว ยังได้ไคตินที่เป็นประโยชน์ต่อตัวสัตว์ และเป็นการใช้เศษเหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมให้เกิดประโยชน์สูงสุด และช่วยลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมได้อีกด้วย

3.10 รายการอ้างอิง

กนกธร ปิยธำรงรัตน์. (2546). **เนื้อเยื่อวิทยา**. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ.

Anino, J. S., and Giese, R. W. (1976). **Clinical Chemistry: Principles and Procedures** (4th ed.). Boston, Little Brown and company.

AOAC. (1998). **Official Methods of Analysis** (16th ed.). Washington D.C.: Association of Official Analytical Chemists.

Chen, H. C., Chang, C. C., Mau, W. J., and Yen, L. S. (2002). Evaluation of *N* - acetylchitooligosaccharides as the main carbon sources of the growth of intestinal bacteria. **FEMS Microbiol Lett.** 209: 53-56.

Fanimo, A. O., Mudama, E., Umukoro, T. O., and Oduguwa, O. O. (1996). Substitution of shrimp waste meal for fish meal in broiler chicken rations. **Trop. Agric. (Trinidad)** 73(2): 201-205.

Fu, X. L., Xu, J. G., and Gao, Sh. Y. (1999). Inhibition of adherence and invasiveness of diarrheogenic E. coli to Hep-2 cell by Lactobacillus DOM La. Chin. **J. Microbiol. Immunol.** 19: 3-6.

Hornung, D. E., and Stevenson, J. R. (1971). Changes in the rate of chitin synthesis during the crayfish molting cycle. **Comp. Biochem. Physiol.** 40B: 341-346.

Khempaka, S., Mochizuki, M., Koh, K., and Karasawa, Y. (2006). Effect of chitin in shrimp

meal on growth performance and digestibility in growing broilers. **Poult. Sci.** 43: 339-343.

Khempaka, S., Koh, K., and Karasawa, Y. (2006). Effect of shrimp meal on growth performance and digestibility in growing broilers. **Poult. Sci.** 43: 250-254.

Kreukniet, M. B., Nieuwl, M. G. B., and van der Zijpp, A. J. (1994). Phagocytic activity of two lines of chickens divergently selected for antibody production. **Vet. Immunol. Immunopathol.** 44: 371-387.

Kumta, U. S., and Harper, A. E. (1961). Amino acid imbalance vii. Effects of dietary additions of amino acid on food intake and blood urea concentration of rats fed low protein diet containing fibrin. **J. Nutr.** 73: 139-147.

Li, X. J., Piao, X. S., Kim, S. W., Liu, P., Wang, L., Shen, Y. B., Jung, S. C., and Lee, H. S. (2007). Effects of chitooligosaccharide supplementation on performance, nutrient digestibility, and serum composition in broiler chickens. **Poult. Sci.** 86: 1107-1114.

National Research Council. (1994). **Nutrient Requirements of Poultry** (9th ed.). National Academy Press. Washington D.C.

Okawa, Y., Kobayashi, M., Suzuki, S., and Suzuki, M. (2003). Comparative study protective effects of chitin, chitosan, and *N*-acetyl chitohexaose against *Pseudomonas aeruginosa* and *Listeria monocytogenes* infection in mice. **Biol. Pharm. Bull.** 26(6): 902-904.

Ranjihan, S. K. (1980). **Animal Nutrition in Topics** (2nd ed.). Vikas Publishing House.

Razdan, A., and Pettersson, D. (1994). Effect of chitin and chitosan on nutritient digestibility and plasma lipid concentrations in broiler chickens. **British J. Nutr.** 74: 277-288.

Sibbald, I. R. (1976). A bioassay for true metabolizable energy in feedingstuffs. **Poult. Sci.** 55: 303-308.

SPSS. (2004). User's Guide, Version 13.0 SPSS Inc., Chicago, IL.

Van der Wielen, P. W. J. J., Biesterveld, S., Notermans, S., Hofstra, H., Urlings, B. A. P., and van Knapen, F. (2000). Role of volatile fatty acids in development of the cecal microflora in broiler chickens during growth. **Appl. Environ. Microbiol.** 66: 2536-2540.

Vince, A. J., and Burridge, S. M. (1980). Ammonia production by intestinal bacteria: the effects of lactose, lactulose and glucose. **J. Med. Microbiol.** 13: 177-191.

Terry, W. C. (1995). **Avian Hematology and Cytology** (2nd ed.). TechBook., Florida.

Watkins, K. L., Vagnoni, D. B., and Southern, L. L. (1989). Effect of dietary sodium zeolite A and excess calcium on growth and tibia calcium and phosphorus concentration in uninfected and Eimeria acervulina-infected chicks. **Poult. Sci.** 68: 1236-1240.

Willis, R. B., Montgomery, M. E., and Allen, P. R. (1996). Improved method for manual, colorimetric determination of total Kjeldahl nitrogen using salicylate. **J. Agric. Food Chem.** 1804-1807.

Zdunczyk, Z., Juskiewicz, J., Jankowski, J., Biedrzycka, E., and Koncicki, A. (2005). Metabolic response of the gastrointestinal tract of turkeys to diets with different levels of mannan-oligosaccharide. **Poult. Sci.** 84: 903-909.

บทที่ 4
การศึกษาผลของเปลือกกุ้งป่น เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบแหล่งโปรตีน ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และคุณภาพซากในไก่เนื้อ

4.1 คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีปริมาณการผลิตและการส่งออกกุ้งแช่แข็งรายใหญ่เป็นลำดับต้นของโลก และอุตสาหกรรมการส่งออกกุ้งแช่แข็งหลังจากเสร็จสิ้นกระบวนการผลิตจะมีส่วนของเสียคือ เปลือกกุ้ง และหัวกุ้ง ซึ่งหัวกุ้งเป็นส่วนที่เหลือจากการแปรรูปมากที่สุดประมาณ 34-45% ของวัตถุดิบที่ใช้ในการแปรรูป (Meyers and Rutledge, 1971; วรรณา ชูฤทธิ์ และคณะ, 2543) เปลือกกุ้งเป็นผลพลอยได้ที่มีศักยภาพในการเป็นแหล่งโปรตีนคุณภาพดีจากสัตว์เนื่องจากมีระดับโปรตีนอยู่ในช่วง 39.45 ถึง 56.95% (Fanimo, Oduguwa, Oduguwa, Ajas, and Jegede, 2004; นพวรรณ ฉิ้มสังข์, นิฟารีซา เจ๊ะเล๊าะ, พรพิมล พิมลรัตน์, และ ชุติมา ตันติกิตติ, 2549) จากรายงานของ Islam, Hossain, Baibul, and Howlider (1994) พบว่าสามารถใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อ ที่ระดับ 14.3% โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต สอดคล้องกับ Rosenfeld et al. (1997) และ Khempaka, Koh, and Karasawa (2006) ที่พบว่าการใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อที่ระดับ 31.6 และ 12% ตามลำดับ ไม่ส่งผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตเช่นกัน และ Khempaka, Koh, and Karasawa ยังพบว่าการใช้เปลือกกุ้งในอาหารไก่เนื้อที่ระดับ 4-6% ส่งผลในการเพิ่ม Redness ในเนื้อส่วนน่อง ซึ่งเป็นผลมาจากสารให้สีจำพวก Astaxanthin ที่มีอยู่ในเปลือกกุ้ง นอกจากนั้น Chen, Chang, Mau, and Yen (2002) พบว่าไคตินซึ่งเป็นส่วนประกอบในเปลือกกุ้งมีผลต่อการยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ก่อโรค และกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน อย่างไรก็ตามข้อมูลในการศึกษาผลของไคตินที่อยู่ในรูปของเปลือกกุ้งในอาหารสัตว์ ในแง่ของการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร การผลิตกรดไขมันระเหยได้ การผลิตแอมโมเนีย ค่าทางโลหิตวิทยา และการตอบสนองภูมิคุ้มกัน ยังมีค่อนข้างจำกัด ดังนั้นการวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของเปลือกกุ้งป่น ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต การกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน การเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร การผลิตกรดไขมันระเหยได้ การผลิตแอมโมเนีย และคุณภาพซากของไก่เนื้อ

4.2 วัตถุประสงค์

4.2.1 เพื่อศึกษาผลของเปลือกกุ้งป่นในการใช้เป็นวัตถุดิบอาหารแหล่งโปรตีนต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และคุณภาพซากไก่เนื้อ

4.2.2 เพื่อศึกษาผลของเปลือกกุ้งป่นต่อการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน การเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร การผลิตกรดไขมันระเหยได้ และแอมโมเนียในไก่เนื้อ

4.3 อุปกรณ์และวิธีการ

4.3.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง

ใช้ไก่เนื้อสายพันธุ์การค้า (Arbor Acers) เพศผู้ อายุ 1 วัน น้ำหนักตัวเฉลี่ย 43 กรัม จำนวน 400 ตัว โดยแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ๆ ละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 20 ตัว ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ไก่ในแต่ละหน่วยทดลองมีน้ำหนักตัวใกล้เคียงกัน เลี้ยงไก่ในคอกทดลองแบบปล่อยพื้นภายในโรงเรือนระบบปิด มีการให้น้ำและอาหารอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) โดยไก่ทุกตัวได้รับวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลและโรคหลอดลมอักเสบติดต่อ ที่อายุ 7 วัน และวัคซีนป้องกันโรคกัมโบโร ที่อายุ 14 วัน การทดลองแบ่งออกเป็น 2 ช่วงอายุ คือ 0-21 วัน และ 22-42 วัน

4.3.2 การเตรียมเปลือกกุ้งป่น

การเตรียม และองค์ประกอบโภชนะของเปลือกกุ้ง เช่นเดียวกับข้อ 3.3.2 ในบทที่ 3

4.3.3 การเตรียมอาหารทดลอง

อาหารทดลองจะผสมเปลือกกุ้งป่นลงในอาหารไก่เนื้อที่ระดับต่าง ๆ โดยอาหารทดลองที่ใช้แบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ประกอบด้วย

กลุ่มที่ 1 : สูตรควบคุม (Control)

กลุ่มที่ 2 : เสริมเปลือกกุ้ง ที่ระดับ 5%

กลุ่มที่ 3 : เสริมเปลือกกุ้ง ที่ระดับ 10%

กลุ่มที่ 4 : เสริมเปลือกกุ้ง ที่ระดับ 15%

กลุ่มที่ 5 : เสริมเปลือกกุ้ง ที่ระดับ 20%

อาหารทดลองทุกสูตรคำนวณให้มีระดับโภชนะที่เพียงพอกับความต้องการของไก่เนื้อในแต่ละช่วงอายุ (0-21วัน และ 22-42วัน) ตามคำแนะนำของ NRC (1994) โดยในสูตรอาหารได้คำนวณปริมาณโปรตีนของเปลือกกุ้งโดยแยกส่วนของไคตินออก เพื่อป้องกันการมีปริมาณโปรตีนที่ไม่เพียงพอต่อความต้องการของไก่ นอกจากนั้นได้ปรับสัดส่วนของแคลเซียม และฟอสฟอรัสให้มี

ตารางที่ 4.1 ส่วนประกอบของสูตรอาหารทดลอง

Ingredient (%)	Shrimp shell meal (%)									
	Starter (0 to 21 d)					Finisher (22 to 42 d)				
	0	**5**	**10**	**15**	**20**	**0**	**5**	**10**	**15**	**20**
Corn	52.92	45.80	42.46	38.08	28.11	61.52	50.14	46.37	44.35	36.50
Soybean meal (44%CP)	35.15	30.15	25.15	20.15	15.15	26.65	21.65	16.65	11.65	6.65
Fish meal (51%CP)	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Cassava starch	0.00	1.98	1.00	0.00	0.00	0.00	2.88	2.12	0.36	0.00
Rice bran	0.17	5.65	9.74	14.68	22.80	1.23	9.79	14.22	18.00	24.50
Shrimp shell meal	0.00	5.00	10.00	15.00	20.00	0.00	5.00	10.00	15.00	20.00
Soybean oil	4.50	4.86	5.69	6.63	8.08	3.30	3.77	4.54	5.35	6.74
Salt	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
DL-Methionine	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.20	0.22	0.22	0.24	0.26
L-Lysine	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	0.10	0.13	0.10	0.10
$CaCO_3$	1.20	0.60	0.30	0.00	0.00	1.20	0.70	0.20	0.00	0.00
Ca_2PO_4	1.00	0.90	0.60	0.00	0.00	1.05	1.00	0.80	0.00	0.00
K_2HPO_4	0.00	0.00	0.00	0.40	0.80	0.00	0.00	0.00	0.20	0.50
Premix[1/]	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Calculated composition (%)										
AME, kcal/ kg	3,100	3,100	3,100	3,100	3,100	3,100	3,100	3,100	3,100	3,100
Met + Cys	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
Lysine	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Available P	0.5	0.5	0.5	0.5	0.7	0.5	0.5	0.5	0.5	0.6
Analyzed composition (%)										
Dry matter	89.7	90.0	90.3	90.6	91.1	89.9	90.3	90.3	90.6	91.3
Crude protein	22.0	22.2	22.2	22.2	22.3	19.1	19.4	19.3	19.4	19.4
Fiber	3.6	4.1	5.9	5.9	7.5	3.9	5.9	5.8	6.9	7.2
Fat	7.5	9.5	11.2	12.5	13.6	6.4	8.4	9.5	12.9	14.3
Calcium	0.9	1.0	1.1	1.1	1.2	1.0	1.1	1.1	1.1	1.2
Total P	0.8	0.9	0.9	0.9	1.2	0.9	0.7	0.9	0.9	1.0

หมายเหตุ: [1/] Premix (1 kg) = Vitamin A, 15,000 IU; Vitamin D_3, 3,000 IU; Vitamin E, 25 IU; Vitamin K_3, 5 mg; Vitamin B_1, 2.5 mg; Vitamin B_2, 7 mg; Vitamin B_6, 4.5 mg; Vitamin B_{12}, 25 μ g; Pantothenic acid, 35 mg; Folic acid, 0.5 mg; Biotin, 25 μ g; Nicotinic acid, 35 mg; Choline chloride, 250 mg; Mn, 60 mg; Zn, 45 mg; Fe, 80 mg; Cu, 1.6 mg; I, 0.4 mg; Se, 0.15 mg.

4.4 การเก็บตัวอย่าง

4.4.1 การศึกษาสมรรถนะการเจริญเติบโต (Growth performance)

ทำการชั่งและบันทึกน้ำหนักตัวไก่ และปริมาณอาหารที่กินแต่ละกลุ่มทดลองทุกสัปดาห์ และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (วันที่ 42) ทำการเก็บเลือดเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือด (Blood urea-nitrogen, BUN) โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Annino and Giese (1976) เพื่อนำข้อมูลไปใช้สนับสนุนผลในการศึกษาสมรรถนะการเจริญเติบโต และอัตราการแลกเนื้อ รวมทั้งบันทึกจำนวนสัตว์ป่วยและอัตราการตายของไก่ทุกครั้งที่พบว่ามีการป่วย และการตายของไก่เกิดขึ้นในแต่ล่ะกลุ่มการทดลอง

4.4.2 การศึกษาด้านคุณภาพซาก (Carcass quality)

เมื่อสิ้นสุดทดลอง (ไก่อายุ 42 วัน) สุ่มไก่กลุ่มการทดลองละ 4 ตัว (ซ้ำละ 1 ตัว) โดยสุ่มให้มีน้ำหนักตัวใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ยของไก่ทั้งหมด ชั่งและบันทึกน้ำหนักมีชีวิต (Live weight) ที่ผ่านการอดอาหารเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำการฆ่าโดยวิธีเชือดที่เส้นเลือดใหญ่บริเวณคอ (Jugular vein) จากนั้นชำแหละและแยกส่วนประกอบของซาก เพื่อวัดและบันทึกคุณภาพซาก ได้แก่ เปอร์เซ็นต์ซาก (% Eviscerated yield) และเปอร์เซ็นต์เครื่องใน (% Giblets yield) นำซากไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำซากดังกล่าวมาวัดสี โดยทำการวัด 3 ตำแหน่งคือ สีของหนังบริเวณอก สีของเนื้อบริเวณอกและสะโพก ด้วยเครื่อง Minolta colorimeter (Chroma Meter CR-300, Minolta, Japan) โดยวัด L*, a*, b* ของเนื้อและผิวหนังตำแหน่งละ 10 จุด

เปอร์เซ็นต์ซาก (% eviscerated yield) = {(น้ำหนักซาก ไม่รวมเครื่องใน คอ และแข้ง)/น้ำหนักมีชีวิต} x 100

4.4.3 การศึกษาประชากรจุลินทรีย์ใน Digesta บริเวณลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (วันที่ 42) ทำการสุ่มไก่กลุ่มการทดลองละ 8 ตัว (ซ้ำละ 2 ตัว) โดยไม่ต้องทำการอดอาหาร จากนั้นทำให้สลบ และฆ่า ทำการเก็บ Digesta บริเวณลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม โดยมีวิธีการเช่นเดียวกับข้อ 3.4.3 ในบทที่ 3

4.4.4 การศึกษาปริมาณกรดไขมันระเหยได้ และแอมโนเนียใน Digesta บริเวณลำไส้เล็ก ลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม และมูล

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (วันที่ 42) ทำการสุ่มไก่กลุ่มการทดลองละ 8 ตัว (ซ้ำละ 2 ตัว) โดยไม่ต้องทำการอดอาหาร จากนั้นทำให้สลบ และฆ่า ทำการเก็บ Digesta บริเวณลำไส้เล็ก และ

4.4.5 การศึกษาด้านภูมิคุ้มกัน

เมื่อไก่อายุ 21 วัน และ 42 วัน ทำการสุ่มไก่กลุ่มการทดลองละ 8 ตัว (ซ้ำละ 2 ตัว) เพื่อเจาะเลือด โดยมีวิธีการเช่นเดียวกับข้อ 3.4.5 ในบทที่ 3

4.4.5.1 ปริมาณไลโซไซม์ในซีรัม

โดยมีวิธีการเช่นเดียวกับข้อ 3.4.5.1 ในบทที่ 3

4.4.5.2 ปริมาณอิมมูโนโกลบูลิน

โดยมีวิธีการเช่นเดียวกับข้อ 3.4.5.2 ในบทที่ 3

4.4.5.3 วิเคราะห์หาค่าทางโลหิตวิทยา

ตรวจนับจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมด

ตรวจนับจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด

การจำแนกชนิดของเม็ดเลือดขาว

โดยมีวิธีการเช่นเดียวกับข้อ 3.4.5.3 ในบทที่ 3

4.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวน (Analysis of Variances, ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) และวิเคราะห์เพื่อเปรียบเทียบค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยในแต่ละปัจจัยการทดลองด้วยวิธี Duncan's new multiple range test และวิเคราะห์หาแนวโน้มระหว่างค่าเฉลี่ยในแต่ละปัจจัยด้วยวิธี Orthogonal Polynomials โดยใช้โปรแกรมสถิติสำเร็จรูป (SPSS, 2004)

4.6 สถานที่ทำการทดลอง

ฟาร์มมหาวิทยาลัย และอาคารเครื่องมือ 3 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4.7 ระยะเวลาทำการทดลอง

เริ่มทดลองในช่วงเดือน ธันวาคม พ.ศ. 2551 ถึง มีนาคม พ.ศ. 2552

4.8 ผลการทดลอง และการอภิปรายผล

4.8.1 ผลของเปลือกกุ้งป่นต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต

ผลของเปลือกกุ้งป่นในอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ ดังแสดงในตารางที่ 4.2 จากการทดลองพบว่าไก่เนื้อที่ได้รับเปลือกกุ้งป่นทุกระดับ (5, 10, 15 และ 20%) ที่อายุ 0-21 วัน มีการตอบสนองในเรื่องของน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นแบบ Cubic ($P<0.05$) โดยมีน้ำหนักตัวเพิ่มสูงขึ้นเมื่อได้รับอาหารที่ใช้เปลือกกุ้งป่นที่ระดับ 5% ($P<0.05$) แต่เมื่อใช้เปลือกกุ้งป่นสูงขึ้นที่ระดับ 10 ถึง 20% ไม่มีผลทำให้น้ำหนักตัวแตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P>0.05$) การใช้เปลือกกุ้งป่นในระดับที่สูงขึ้นมีผลในการลดการกินได้ของไก่แบบ Quadratic ($P<0.05$) โดยการใช้เปลือกกุ้งป่นที่ระดับ 10 และ 15% ส่งผลให้การกินได้ลดลง ส่วนอัตราการแลกเนื้อ (FCR) พบว่ามีการตอบสนองแบบ Quartic ($P<0.05$) โดยไก่ที่ได้รับอาหารที่ใช้เปลือกกุ้งป่นที่ระดับ 5 ถึง 15% มีอัตราการแลกเนื้อดีที่สุด ส่วนในช่วงอายุ 22-42วัน พบว่าเมื่อไก่ได้รับเปลือกกุ้งป่นในระดับที่สูงถึง 20% มีผลทำให้น้ำหนักตัว และอัตราการแลกเนื้อด้อยลงแบบ Quartic ($P<0.05$) เมื่อพิจารณาตลอดช่วงอายุ 0-42 วัน พบว่าให้ผลเช่นเดียวกับไก่เนื้อในช่วงอายุ 22-42 วัน ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Islam et al. (1994) ที่รายงานว่าการใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารที่ระดับ 14.3% ไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และอัตราการตายของไก่เนื้อ ในขณะที่ Rosenfeld et al. (1997) รายงานว่าการใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อที่ระดับ 31.6% ไม่ส่งผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต แต่จากการทดลองครั้งนี้เห็นได้ว่าการใช้เปลือกกุ้งป่นที่ระดับ 20% ส่งผลให้สมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อลดลง ซ่งกลไกดังกล่าวยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่อาจเป็นผลเนื่องจากการที่เปลือกกุ้งป่นมีไคตินเป็นองค์ประกอบ และมีเยื่อใยสูง ซึ่งไคตินเป็นโพลีแซ็กคาไรด์ที่ไม่สามารถย่อยได้ จึงส่งผลในการขัดขวางการย่อยโปรตีนและไขมันจากเอ็นไซม์ในระบบทางเดินอาหาร ทำให้การใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะลดลง (Castro, Stoyan, and Myer, 1989)

ตารางที่ 4.2 ผลของเปลือกกุ้งป่นต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้ออายุ 0-42 วัน

Item	Shrimp shell meal (%)							P-value
	0	5	10	15	20	SEM	P-value	Trend[1/]
Day 0-21								
BW gain (g)	872.30[b]	911.50[a]	875.75[b]	857.00[b]	877.01[b]	9.82	0.018	C = 0.002
FI (g/bird)	1,337.91[ab]	1,275.75[bc]	1,263.50[c]	1,233.75[c]	1,343.74[a]	21.78	0.010	Q = 0.001
FCR	1.53[a]	1.40[b]	1.44[b]	1.44[b]	1.53[a]	0.02	0.001	Qu = 0.048
Day 22-42								
BW gain (g)	1,756.90[a]	1,838.54[a]	1,751.35[a]	1,734.86[a]	1,578.35[b]	50.72	0.033	Q = 0.049
FI (g/bird)	3,799.59	3,896.47	3,815.67	3,868.47	3,991.82	85.24	0.542	NS
FCR	2.16[b]	2.12[b]	2.18[b]	2.23[b]	2.53[a]	0.04	0.001	Q = 0.001
Day 0-42								
BW gain (g)	2,629.21[a]	2,750.04[a]	2,627.10[a]	2,591.86[ab]	2,455.36[b]	56.36	0.033	L = 0.012
FI (g/bird)	5,137.50	5,172.22	5,079.17	5,102.22	5,335.56	96.52	0.390	NS
FCR	1.95[bc]	1.88[c]	1.93[bc]	1.97[b]	2.17[a]	0.02	0.001	Q = 0.001
Mortality (%)	3.75	3.75	5.00	0.00	3.75	0.16	0.288	NS

หมายเหตุ: SEM = Standard error of the mean; NS = Not significant (P>0.05); [a, b, c, d] ในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ; [1/]Refer to polynomial trend analysis; L = Linear trend; C = Cubic trend; Q = Quadratic trend; Qu = Quartic; BW gain= Body weight gain; FI= Feed intake; FCR= Feed conversion ratio

4.8.2 ผลของเปลือกกุ้งป่นต่อคุณภาพซาก ลักษณะสีเนื้อ และผิวหนัง

เมื่อไก่อายุครบ 42 วัน ได้ทำการสุ่มไก่และฆ่าเพื่อวัดคุณภาพซาก ลักษณะสีของเนื้อและผิวหนัง ดังแสดงในตารางที่ 4.3 จากการทดลองพบว่าไก่เนื้อที่ได้รับเปลือกกุ้งป่นทุกระดับ (5, 10, 15 และ 20%) มีคุณภาพซาก ซึ่งได้แก่ เปอร์เซ็นต์ซาก และเปอร์เซ็นต์เครื่องในไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (P>0.05) สอดคล้องกับ Fanimo et al. (1996); Rosenfeld et al. (1997) และ Mahata, Dharma, Ryanto, and Rizal (2008) ที่รายงานว่าการใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อที่ระดับ 14.79, 31.6 และ 12% ตามลำดับ ไม่ส่งผลกระทบต่อเปอร์เซ็นต์ซาก ส่วนการใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหารไก่เนื้อต่อลักษณะสีของเนื้อและผิวหนัง ซึ่งได้แก่ ความสว่าง (Lightness) ความแดง (Redness) และความเหลือง (Yellowness) ไม่พบความแตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (P>0.05) (ตารางที่4.3) ในขณะที่ Khempaka, Mochizuki, Koh, and Karasawa (2006) รายงานว่าการใช้เปลือกกุ้งในอาหารไก่เนื้อที่ระดับ 4-12% สามารถเพิ่มความแดง (Redness) ในเนื้อส่วนน่อง นอกจากนี้ Gernat (2001) รายงานว่าการใช้เปลือกกุ้งในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 4.6-18.6% สามารถเพิ่มสีของไข่แดงได้ ซึ่งสาเหตุการเปลี่ยนแปลงของสีเนื้อและสีไข่แดงมาจากการใช้เปลือกกุ้งป่นในอาหาร เนื่องจากในเปลือกกุ้งป่นมีส่วนประกอบของสารให้สีจำพวก Astaxanthin แต่จากการทดลองครั้งนี้ไม่พบผลของเปลือกกุ้งป่นต่อการเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อและผิวหนัง แต่อย่างไรก็ตามค่าความแดงของสีเนื้อ และผิวหนังมีความสอดคล้องกับการมีสารสี Astaxanthin เพิ่มขึ้น ตามการเพิ่มของระดับเปลือกกุ้งป่นในสูตรอาหาร แต่สาเหตุอีกประเด็นที่ไม่พบความแตกต่างอาจเกิดจากความผันแปรของแหล่งข้อมูล ซึ่งค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปร (Coefficient of variation) ของความแดงในเนื้อส่วนอก เนื้อส่วนสะโพกและผิวหนัง มีค่าค่อนข้างสูง 40.85, 20.16 และ 32.16% ตามลำดับ ซึ่งสารสี Astaxanthin จะละลายได้ในไขมันจึงเห็นได้ว่าบริเวณผิวหนังซึ่งเป็นส่วนที่มีไขมันสะสมอยู่มากมีค่าความแดงมากกว่าเนื้อส่วนสะโพก และอกซึ่งมีการสะสมของไขมันน้อยกว่าตามลำดับ และนอกจากนั้นอาจเป็นผลมาจากการลดลงของข้าวโพดและกากถั่วเหลืองเมื่อมีการใช้เปลือกกุ้งป่นในสูตรอาหาร ซึ่งทั้งข้าวโพดและกากถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบที่มีส่วนประกอบของสารให้สี โดยข้าวโพดมีสารให้สี Xanthophyll และ Lutein ปริมาณ 17 และ 0.12 มก./กก. ตามลำดับ (NRC, 1994) กากถั่วเหลืองมี สารให้สี ß-carotene และ Lutein 0.02 และ 0.27 มก./กก. ตามลำดับ (Kanamaru, Shaodong, Jun, Tetsuya, and Keisuke, 2006) ส่วนเปลือกกุ้งมีสารให้สี Astaxanthin และ Cantaxanthin ที่ระดับ 7 และ 27 มก./กก. ตามลำดับ (Hertrampf and Piedadl, 2000)

ตารางที่ 4.3 ผลของเปลือกกุ้งป่นต่อคุณภาพซาก ลักษณะสีเนื้อ และผิวหนังในไก่เนื้ออายุ 42 วัน

Item	Shrimp shell meal (%)					SEM	P-value	P-value
	0	5	10	15	20			Trend[1]
Eviscerated								
(% of live weight)	74.79	72.55	72.01	73.37	71.24	1.42	0.484	NS
Giblets								
(% of live weight)	8.06	9.10	8.51	8.43	8.76	0.42	0.523	NS
Meat colors								
Lightness (L* value)								
Breast meat	57.82	59.46	62.49	58.93	61.23	1.42	0.200	NS
Thigh meat	64.19	64.45	64.96	65.51	64.19	0.98	0.847	NS
Skin	69.50	70.47	72.22	70.05	69.60	0.94	0.290	NS
Redness (a* value)								
Breast meat	1.56	1.83	1.81	2.33	2.46	0.40	0.507	NS
Thigh meat	2.85	3.44	3.20	3.34	3.61	0.34	0.563	NS
Skin	2.78	4.36	3.70	4.54	4.99	0.66	0.208	NS
Yellowness (b* value)								
Breast meat	1.59	1.46	1.19	1.29	1.71	0.36	0.854	NS
Thigh meat	2.14	1.92	2.09	1.64	2.25	0.26	0.515	NS
Skin	4.35	3.75	3.40	3.08	2.98	0.44	0.234	NS

หมายเหตุ: SEM = Standard error of the mean; NS = Not significant (P>0.05); [1/]Refer to polynomial trend analysis

4.8.3 ผลของเปลือกกุ้งป่นต่อประชากรจุลินทรีย์ ปริมาณแอมโมเนีย และปริมาณกรดไขมันระเหยได้

ผลของเปลือกกุ้งป่นในอาหารต่อปริมาณแอมโมเนีย และประชากรจุลินทรีย์ใน Digesta บริเวณลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม ดังแสดงในตารางที่ 4.4 จากการทดลองพบว่าไก่เนื้อที่ได้รับเปลือกกุ้งป่นในอาหารทุกระดับ (5, 10, 15 และ 20%) เป็นระยะเวลา 42 วัน มีผลการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอมโมเนีย ประชากรจุลินทรีย์ *E. coli*, *Lactobacillus* spp. และ *Salmonella* spp. ใน ลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัมไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (P>0.05) ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับกรดไขมันระเหยได้ที่ไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (P>0.05) ซึ่งผล การทดลองดังกล่าวให้ผลที่แตกต่างกันกับการทดลองในบทที่ 3 (ตารางที่ 3.5 และ 3.6 ตามลำดับ) ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากอายุที่แตกต่างกันของไก่เนื้อที่ทำการทดลอง โดยจะเห็นได้ว่า

ตารางที่ 4.4 ผลของเปลือกกุ้งป่นต่อประชากรจุลินทรีย์ กรดไขมันระเหยได้ และปริมาณแอมโมเนีย ในลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัมของไก่เนื้ออายุ 42 วัน

Item	Shrimp shell meal (%)					SEM	P-value	P-value Trend[1]
	0	5	10	15	20			
Microbial population								
Small intestine (log CFU/g)								
E. coli	4.40	4.35	3.66	4.97	3.84	0.31	0.193	NS
Lactobacillus spp.	6.92^{ab}	6.56^{b}	6.79^{ab}	7.42^{a}	6.22^{b}	0.24	0.048	C=0.006
Salmonella spp.	2.00	2.35	2.77	2.73	2.28	0.20	0.261	NS
Cecum (log CFU/g of wet)								
E. coli	7.32	7.33	7.25	7.69	7.66	0.25	0.649	NS
Lactobacillus spp.	9.38	9.13	9.26	8.97	8.73	0.20	0.226	NS
Salmonella spp.	2.55	1.99	2.41	2.77	2.69	0.11	0.368	NS
Ammonia								
Small intestine (g/100g)								
	0.13	0.12	0.13	0.13	0.12	0.03	0.936	NS
Cecum (g/100g)								
	0.46	0.42	0.32	0.37	0.44	0.06	0.225	NS
VFA (µmol/g)								
Cecum								
Acetic acid	5.43	7.51	7.16	6.38	6.00	0.76	0.319	NS
Propionic acid	1.81	2.25	2.35	2.21	2.10	0.28	0.716	NS
Butyric acid	9.20	11.82	11.92	11.11	10.49	0.85	0.163	NS

หมายเหตุ: SEM = Standard error of the mean; NS = Not significant (P>0.05); $^{a, b}$ ในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ; [1/]Refer to polynomial trend analysis; C = Cubic trend

4.8.4 ผลของเปลือกกุ้งป่นต่อปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือด และค่าทางโลหิตวิทยา

ผลของเปลือกกุ้งป่นในอาหารต่อปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือด และค่าทางโลหิตวิทยาของไก่เนื้อเมื่อได้รับเปลือกกุ้งป่นที่อายุ 21 และ 42 วัน ดังแสดงในตารางที่ 4.5 จากการทดลองพบว่าระดับของเปลือกกุ้งป่นในระดับที่สูงขึ้นในอาหารไก่เนื้อที่อายุ 21 วัน มีผลทำให้ปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดลดลงแบบ Quadratic ($P<0.05$) โดยการใช้เปลือกกุ้งป่นที่ระดับ 10 และ 15% สามารถลดปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดได้ แต่ไม่พบความแตกต่างดังกล่าวในไก่เนื้ออายุ 42 วัน ($P>0.05$) โดยปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดบ่งบอกถึงความสมดุลของกรดอะมิโนในอาหารที่ตรงตามความต้องการของสัตว์ หากในอาหารมีปริมาณกรดอะมิโนที่ไม่สมดุลร่างกายจะขับออกในรูปของยูเรีย ส่งผลให้ปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดเพิ่มขึ้น (Kumta and Harper, 1961; Ranjihan, 1980) โดยปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดที่ลดลง อาจเกิดจากค่าการย่อยได้ของกรดอะมิโนจำเป็นในสูตรอาหาร ซึ่งเมื่อคำนวณการย่อยได้ของกรดอะมิโนในสูตรอาหาร พบว่าสูตรอาหารที่ใช้เปลือกกุ้งป่นในระดับ 10 และ 15% มีสัดส่วนการย่อยได้ของกรดอะมิโนที่จำเป็นใกล้เคียงกับความต้องการของสัตว์ตามคำแนะนำของ NRC (1994) และอีกสาเหตุที่มีผลทำให้ปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดลดลงอาจเกิดจากกรดอะมิโนจากเปลือกกุ้งป่นเข้ามามีบทบาทช่วยเพิ่มความสมดุลกรดอะมิโนในสูตรอาหาร จึงทำให้ไก่เนื้อที่ได้รับสูตรอาหารดังกล่าวมีปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดที่ลดลง ($P<0.05$) สำหรับค่าทางโลหิตวิทยาพบว่าในไก่เนื้อที่อายุ 21 และ 42 วัน เมื่อได้รับเปลือกกุ้งป่นในระดับต่าง ๆ ไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P>0.05$) และในส่วนของชนิดเม็ดเลือดขาว พบว่าในไก่เนื้อที่อายุ 21 วัน เมื่อได้รับเปลือกกุ้งป่นในระดับ 10 ถึง 20% มีผลในการเพิ่มเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนซัยต์แบบ Quartic ($P<0.05$) ส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดอื่น ๆ ไม่พบความแตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P>0.05$) ส่วนในไก่เนื้อที่อายุ 42 วัน พบว่าการใช้เปลือกกุ้งป่นที่ระดับต่าง ๆ ไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณเม็ดเลือดขาวทุกชนิดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P>0.05$) โดย กนกธร ปิยธำรงรัตน์ (2546) รายงานว่าเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนซัยต์มีคุณสมบัติในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย และหากมีปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนซัยต์อยู่ในช่วงที่สูงแต่ยังไม่เกินค่าปกติ (2-6%) แสดงว่าเซลล์สามารถต่อต้านสิ่งแปลกปลอมและเชื้อโรคได้เป็นอย่างดี ซึ่งการเสริมเปลือกกุ้งป่นในระดับที่สูงขึ้นในอาหารไก่เนื้อที่อายุ 21 วัน มีผลเพิ่มปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนซัยต์แบบ Quartic โดยการใช้เปลือกกุ้งป่นที่ระดับ 10, 15 และ 20% สามารถเพิ่มปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนซัยต์ได้ ซึ่งหมายถึงการมีภูมิต้านทานโรคเพิ่มขึ้นและมีสุขภาพที่ดีขึ้นด้วย นอกจากนั้นยังพบว่าการใช้เปลือกกุ้งป่นไม่ส่งผลกระทบต่อสัดส่วนของเม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอโรฟิลล์ และลิมโฟซัยต์

ตารางที่ 4.5 ผลของเปลือกกุ้งป่นต่อปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือด และค่าทางโลหิตวิทยาในไก่เนื้อที่อายุ 21 และ 42 วัน

Item	Shrimp shell meal (%)							P-value
	0	5	10	15	20	SEM	P-value	Trend[1]
21 day								
BUN (mg/dl)	2.15[a]	2.01[abc]	1.92[c]	1.98[c]	2.10[ab]	0.04	0.017	Q=0.001
RBC ($x10^6/mm^3$)	2.20	2.00	1.97	2.07	2.16	0.15	0.792	NS
WBC ($x10^4/mm^3$)	1.41	1.39	1.61	1.57	1.22	0.13	0.238	NS
Monocyte (%)	2.13[b]	2.63[b]	4.50[a]	3.88[a]	4.38[a]	0.40	0.001	Qu=0.033
Eosinophil (%)	4.63	4.50	5.25	4.88	5.00	0.43	0.786	NS
Basophil (%)	4.75	4.13	4.63	4.13	4.38	0.43	0.752	NS
Heterophil (%)	42.88	41.38	40.13	41.63	39.50	0.71	0.081	NS
Lymphocyte (%)	45.63	47.38	45.50	45.50	46.75	0.71	0.230	NS
H/L ratio	0.94	0.87	0.88	0.92	0.85	0.02	0.062	NS
42 day								
BUN (mg/dl)	2.11	1.98	1.96	2.03	2.17	0.06	0.205	NS
RBC ($x10^6/mm^3$)	2.10	2.43	2.58	2.28	2.45	0.15	0.259	NS
WBC ($x10^4/mm^3$)	1.82	2.11	1.95	2.02	1.93	0.89	0.230	NS
Monocyte (%)	3.63	3.00	3.38	3.75	3.25	0.36	0.611	NS
Eosinophil (%)	6.25	6.13	5.50	4.50	6.25	0.38	0.225	NS
Basophil (%)	4.13	3.88	4.50	4.88	3.75	0.51	0.512	NS
Heterophil (%)	32.75	31.25	32.00	30.50	32.25	0.91	0.447	NS
Lymphocyte (%)	53.25	55.75	54.63	55.63	54.5	0.90	0.307	NS
H/L ratio	0.62	0.56	0.59	0.55	0.60	0.02	0.353	NS

หมายเหตุ: SEM = Standard error of the mean; NS = Not significant (P>0.05); [a, b, c] ในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ; [1/]Refer to polynomial trend analysis; Q = Quadratic trend; Qu = Quartic trend

4.8.5 ผลของเปลือกกุ้งป่นต่อปริมาณไลโซไซม์ และอิมมูโนโกลบูลิน

ผลของเปลือกกุ้งป่นในอาหาร ต่อปริมาณไลโซไซม์ และอิมมูโนโกลบูลินในไก่เนื้อเมื่อได้รับเปลือกกุ้งป่นที่อายุ 21 และ 42 วัน แสดงไว้ในตารางที่ 4.6 จากการทดลอง พบว่าในไก่เนื้ออายุ 21 วัน เมื่อได้รับเปลือกกุ้งป่นที่ระดับสูงขึ้น มีผลเพิ่มปริมาณไลโซไซม์แบบ Linear โดย

ตารางที่ 4.6 ผลของเปลือกกุ้งป่นต่อปริมาณไลโซไซม์ และอิมมูโนโกลบูลินในไก่เนื้อที่อายุ 21 และ 42วัน

Item	Shrimp shell meal (%)							P-value
	0	5	10	15	20	SEM	P-value	Trend[1]
21 day								
Lysozyme content (µg/ml)	5.75[b]	6.06[ab]	6.42[ab]	6.74[a]	6.91[a]	0.28	0.044	L=0.002
Total Ig (mg/dl)	1.66	1.80	1.71	1.95	1.81	0.10	0.408	NS
42 day								
Lysozyme content (µg/ml)	7.32	7.45	7.65	7.50	7.85	0.30	0.798	NS
Total Ig (mg/dl)	1.72	1.85	1.81	2.12	2.04	0.14	0.285	NS

หมายเหตุ: SEM = Standard error of the mean; NS = Not significant (P>0.05); [a, b, c] ในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันทางสถิติ; [1/]Refer to polynomial trend analysis; L = Linear trend

4.9 สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองชี้ให้เห็นว่าการใช้เปลือกกุ้งป่นซึ่งเป็นเศษเหลือจากอุตสาหกรรมการส่งออกกุ้งแช่แข็งเพื่อเป็นแหล่งโปรตีนในอาหารไก่เนื้อสามารถใช้ได้ถึง 15% ในสูตรอาหาร โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต คุณภาพซาก การเปลี่ยนแปลงจำนวนประชากรจุลินทรีย์ การผลิตแอมโมเนีย และกรดไขมันระเหยได้ สามารถลดปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือด นอกจากนั้นการใช้เปลือกกุ้งป่นในระดับดังกล่าวไม่เพียงเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบอาหารแหล่งโปรตีนเพียงอย่างเดียว แต่สารไคตินซึ่งเป็นส่วนประกอบในเปลือกกุ้งยังมีคุณสมบัติในการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันของร่างกายโดยการเพิ่มปริมาณไลโซไซม์ และเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนซัยต์ได้อีกด้วย

4.10 รายการอ้างอิง

กนกธร ปิยธำรงรัตน์. (2546). **เนื้อเยื่อวิทยา**. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ.

นพวรรณ ฉิ้มสังข์ นิฟารีซา เจ๊ะเล๊าะ พรพิมล พิมลรัตน์ และ ชุติมา ตันติกิตติ. (2549). ผลของหัวกุ้งป่นในอาหารต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหารและสีของปลานิลแดงแปลงเพศ (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*). **ว. สงขลานครินทร์ วทท.** 28(5): 951-964.

วรรณา ชูฤทธิ์ จารุวรัตน์ ชินาจริยวงศ์ ทิพยวรรณ ปริพัฒนานนท์ สุปราณี มณูรักษ์ชินากร ศิริอุมา บำรุงวงษ์ ทวีวิทย์ ภัควนิตย์ และโสภา ชาญโสภณ. (2543). **รายงานการวิจัย เรื่องการเพิ่มผลผลิตของโรงงานแปรรูปอาหารทะเลและแนวทางการใช้ผลพลอยได้เพื่ออุตสาหกรรมที่ครบวงจร**, มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์, นครศรีธรรมราช.

Anino, J. S., and Giese, R. W. (1976). **Clinical Chemistry: Principles and Procedures** (4th ed.). Boston, Little Brown and company.

Castro, G., Stoyan, N., and Myers, J. P. (1989). Assimilation efficiency in birds, a function of taxon and food type. **Comp. Biochem. Physiol.** 92A: 271-278.

Chen, H. C., Chang, C. C., Mau, W. J., and Yen, L. S. (2002). Evaluation of *N* – acetylchitooligosaccharides as the main carbon sources of the growth of intestinal bacteria. **FEMS Microbiol Lett.** 209: 53-56.

Fanimo, A. O., Mudama, E., Umukoro, T. O., and Oduguwa, O. O. (1996). Substitution of shrimp waste meal for fish meal in broiler chicken rations. **Trop. Agric. (Trinidad)** 73(2): 201-205.

Fanimo, A. O., Oduguwa, B. O., Oduguwa, O. O., Ajas, O. Y., and Jegede, O. (2004). Feeding value of shrimp meal for growing pig. **Arch. Zootec.** 53: 77-85.

Gernat, A. G. (2001). The effect of using different levels of shrimp meal in laying hen diets. **Poult. Sci.** 80: 633-636.

Hertrampf, J. W., and Piedad, P. F. (2000). **Handbook on Ingrediens for Aquaculture Feed.** Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

Islam, M. A., Hossain, M. D., Baibul, S. M., and Howlider, M. A. (1994). Unconventional feed for broilers. **Ind. Vet. J.** 74: 775-780.

Kanamaru, K., Shaodong, W., Jun, A., Tetsuya, Y., and Keisuke, K. (2006). Identification and characterization of wild soybean (*Glycine soja* Sieb. Et Zecc.) strains with high lutein content. **Breed Sci**. 56: 231-234.

Khempaka, S., Mochizuki, M., Koh, K., and Karasawa, Y. (2006). Effect of chitin in shrimp meal on growth performance and digestibility in growing broilers. **Poult. Sci.** 43: 339-343.

Khempaka, S., Koh, K., and Karasawa, Y. (2006). Effect of shrimp meal on growth performance and digestibility in growing broilers. **Poult. Sci.** 43: 250-254.

Kumta, U. S., and Harper, A. E. (1961). Amino acid imbalance vii. Effects of dietary additions of amino acid on food intake and blood urea concentration of rats fed low protein diet containing fibrin. **J. Nutr.** 73: 139-147.

Mahata, M. E., Dharma, A., Ryanto, H. I., and Rizal, Y. (2008). Effect of substituting shrimp Waste hydrolysate of *Penaeus merguensis* for fish meal in broiler performance. **Pakistan J. Nutr.** 7(6): 806-810.

Meyers, S. P., and Rutledge, J. E. (1971). Shrimp meal-A new look at an old product. **Feedstuffs**. 43: 31-32.

National Research Council. (1984). **Nutrient Requirements of Poultry** (9th ed.). National Academy Press. Washington D.C.

Okawa, Y., Kobayashi, M., Suzuki, S., and Suzuki, M. (2003). Comparative study protective effects of chitin, chitosan, and *N*-acetyl chitohexaose against *Pseudomonas aeruginosa* and *Listeria monocytogenes* infection in mice. **Biol. Pharm. Bull.** 26(6): 902-904.

Ranjihan, S. K. (1980). **Animal Nutrition in Topics** (2 nd ed.). Vikas Publishing House.

Rosenfeld, D. J., Gernat, A. G., Marcano, J. D., Murillo, J. G., Lopez, G. H., and Flores, J. A. (1997). The effect of using different levels of shrimp meal in broiler diets. **Poult. Sci.** 76: 581-587.

SPSS. 2004. User's Guide, Version 13.0 SPSS Inc., Chicago, IL.

Willis, R. B., Montgomery, M. E., and Allen, P. R. (1996). Improved method for manual, colorimetric determination of total Kjeldahl nitrogen using salicylate. **J. Agric. Food Chem.** 1804-1807.

Zdunczyk, Z., Juskiewicz, J., Jankowski, J., Biedrzycka, E., and Koncicki, A. (2005). Metabolic response of the gastrointestinal tract of turkeys to diets with different levels of mannan-oligosaccharide. **Poult. Sci.** 84: 903-909.

บทที่ 5
สรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุป

การศึกษาเพื่อนำเปลือกกุ้งป่นซึ่งเป็นเศษเหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมส่งออกกุ้งแช่แข็งมาประกอบสูตรอาหารไก่เนื้อ โดยหวังผลจากไคตินที่มีอยู่ในเปลือกกุ้งป่นในแง่ของการเป็นสารพรีไบโอติก และหวังผลจากโปรตีนที่มีอยู่ในเปลือกกุ้งป่นในแง่ของการเป็นวัตถุดิบอาหารแหล่งโปรตีน โดยศึกษาผลต่อการย่อยได้ของโภชนะ สมรรถนะการเจริญเติบโต คุณภาพซาก การตอบสนองภูมิคุ้มกัน ค่าทางโลหิตวิทยา การเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร การผลิตกรดไขมันระเหยได้ และการผลิตแอมโมเนียในไก่เนื้อ

ผลการทดลองพบว่าการใช้เปลือกกุ้งป่นที่มีไคตินเป็นส่วนประกอบ ให้ผลเช่นเดียวกับไคตินบริสุทธิ์ในอาหารไก่เนื้อ ในเรื่องของการไม่ส่งผลกระทบต่อการย่อยได้ของวัตถุแห้ง เถ้า และสารอินทรีย์ การเปลี่ยนแปลงกรดไขมันระเหยได้ชนิดกรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก ค่าทางโลหิตวิทยา และการตอบสนองภูมิคุ้มกัน แต่อย่างไรก็ตามการใช้ไคตินจากเปลือกกุ้งป่นมีคุณสมบัติที่ดีกว่าไคตินบริสุทธิ์ ในเรื่องของการไม่ส่งผลกระทบต่อการใช้ประโยชน์ได้ของโปรตีน สามารถลดยูเรียไนโตรเจนในเลือด ลดจุลินทรีย์ให้โทษชนิด *E. coli* และ *Salmonella* spp. การเพิ่มกรดไขมันระเหยได้ชนิดกรดบิวทีริก ถึงแม้ว่าไคตินบริสุทธิ์สามารถลดการผลิตแอมโมเนียได้ดีกว่าก็ตาม แต่ในภาพรวมแล้วจะเห็นได้ว่าไคตินในเปลือกกุ้งมีคุณสมบัติที่ดีเด่นกว่าไคตินบริสุทธิ์ ดังนั้นจึงสามารถนำเอาเปลือกกุ้งซึ่งเป็นเศษเหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมมาใช้ให้เกิดประโยชน์ได้อีกทางหนึ่ง

การทดลองครั้งนี้ยังชี้ให้เห็นว่าเปลือกกุ้งป่นสามารถใช้เป็นวัตถุดิบแหล่งโปรตีนในอาหารไก่เนื้อ สามารถใช้ได้ถึง 15% ในสูตรอาหาร โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ สมรรถนะการเจริญเติบโต ส่วนประกอบซาก และสีของเนื้อ ลดปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือด และนอกจากนั้นการใช้เปลือกกุ้งป่นในระดับดังกล่าวยังส่งผลในการเป็นสารพรีไบโอติกซึ่งส่งผลให้ไก่เนื้อมีสุขภาพดีขึ้น

5.2 ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากการทดลองครั้งนี้ใช้เปลือกกุ้งป่นที่เป็นเศษเหลือจากโรงงานผลิตกุ้งแช่แข็งเพื่อการส่งออก ซึ่งกุ้งที่ใช้ส่วนใหญ่เป็นกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei)* ระดับการใช้เปลือกกุ้งที่แนะนำ

ในอาหารไก่เนื้อ 15% นั้น จะมีไคตินเป็นองค์ประกอบ 2.8% ดังนั้นการใช้เปลือกกุ้งป่นที่ได้มาจากกุ้งชนิดอื่น รวมถึงกรรมวิธีการผลิตที่แตกต่างกัน จำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องของระดับไคติน และโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเปลือกกุ้ง ก่อนที่จะนำมาใช้เลี้ยงไก่เนื้อ และควรคำนึงถึง สัดส่วนของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัส ระดับเยื่อใยในสูตรอาหาร เนื่องจากอาจมีผลต่อการใช้ประโยชน์ได้โภชนะของไก่เนื้อ นอกจากนั้นจากการทดลองเห็นได้ว่าเปลือกกุ้งป่นมีคุณสมบัติในการเป็นทั้งแหล่งวัตถุดิบโปรตีน การเป็นสารพรีไบโอติก และสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ซึ่งเป็นสิ่งที่น่าสนใจอย่างยิ่ง แต่อย่างไรก็ตามสูตรอาหารทดลองในครั้งนี้มีความผันแปรของวัตถุดิบในแต่ละสูตรอาหารค่อนข้างมาก ดังนั้นในการทดลองครั้งต่อไปจึงควรปรับสูตรอาหารให้มีส่วนประกอบของวัตถุดิบที่ใกล้เคียงกันในสูตรอาหารที่มีการใช้เปลือกกุ้งในระดับต่าง ๆ เพื่อที่จะได้เห็นผลของเปลือกกุ้งป่นที่ชัดเจนยิ่งขึ้น

ภาคผนวก ก

วิธีการดำเนินงานทางห้องปฏิบัติการ

1. การเก็บตัวอย่างเลือดจากสัตว์ทดลอง

การเจาะเลือดไก่

ทำการเจาะเลือดไก่บริเวณใต้ปีก โดยใช้เข็มเบอร์ 23 ความยาว ½ นิ้ว แทงลงไปที่เส้นเลือด Wing vein เริ่มดูดเลือดอย่างช้าๆ จนได้ประมาณ 3 มล. เพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยา และทางชีวเคมีต่อไป

การเตรียมเลือดเพื่อวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยา

เก็บเลือดใส่หลอดบรรจุสารป้องกันเลือดแข็งตัว (Ethylene diamine tetra acetic acid; EDTA) แล้วทำการตรวจนับจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด (White blood cell; WBC), การตรวจนับจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมด (Red blood cell; RBC) ด้วยวิธี Manual method อาศัยการเจือจางเลือดก่อนด้วยปิเปตต์นับเม็ดเลือด และจำแนกชนิดของเม็ดเลือดขาว (Terry, 1995) โดยใช้กล้องจุลทรรศน์

2. การนับจำนวนเม็ดเลือดแดง (Red blood cell) (Terry, 1995)

ทำการตรวจนับเม็ดเลือดแดง Red blood cell (RBC) ด้วยวิธี Manual method อาศัยการเจือจางเลือดก่อนด้วยปิเปตต์นับเม็ดเลือดแดง (Red cell pipette) แล้วทำการนับบนแผ่นแก้วนับเม็ดเลือด(Hemocytometer) โดยใช้กล้องจุลทรรศน์และการคำนวณ

เมื่อเจือจางเลือดด้วยน้ำยานับเม็ดเลือดแดง ซึ่งสามารถใช้น้ำยาเจือจางเม็ดเลือดชนิดเดียวกับน้ำยาเจือจางเม็ดเลือดขาวเนื่องจากเม็ดเลือดแดงของสัตว์ปีกมีนิวเคลียสเหมือนกับเม็ดเลือดขาว ซึ่งจะต่างกับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมทั่วไป เนื่องจากเม็ดเลือดแดงของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมจะไม่มีนิวเคลียสจึงไม่สามารถใช้น้ำยาเจือจางเลือดด้วยกันได้ แต่เม็ดเลือดแดงของสัตว์ปีกจะมีนิวเคลียสเหมือนเม็ดเลือดขาวจึงสามารถใช้น้ำยาเจือจางเม็ดเลือดชนิดเดียวกันได้ ซึ่งน้ำยาสามารถคงสภาพเม็ดเลือดแดงไม่ให้เหี่ยว บวมหรือแตก และคงสภาพเม็ดเลือดขาวไว้ได้ในสัดส่วนที่เหมาะสม และขนาดเม็ดเลือดแดงโดยทั่วไปจะมีขนาดเล็กกว่าเม็ดเลือดขาวประมาณสองเท่า จำนวนเม็ดเลือดแดงที่นับได้บนแผ่นแก้วนับเม็ดเลือด ซึ่งทราบปริมาณที่แน่นอน จะสามารถคำนวณกลับไปเป็นจำนวนเม็ดเลือดแดงในเลือดได้ โดยที่การนับสามารถนับแยกจากเม็ดเลือดขาวได้โดยง่าย

อุปกรณ์

1. ปิเปตต์นับเม็ดเลือดแดง
2. ลูกยางเบอร์ 6 หรือ อุปกรณ์ดูดเลือดด้วยปิเปตต์ขนาดเล็ก
3. แผ่นแก้วนับเม็ดเลือดและกระจกปิดทับมาตรฐาน

4. กล้องจุลทรรศน์

5. อุปกรณ์ช่วยนับ (Counter)

สารเคมี

1. น้ำยาเจือจางเม็ดเลือดแดง NaCl 0.85%

วิธีการ

1. ผสมเลือดที่มีสารป้องกันเลือดแข็งตัวให้เข้ากัน แล้วดูดเลือดจากหลอดเก็บเลือดเข้าปิเปตต์นับเม็ดเลือดแดง ให้ถึงขีด 0.5 พอดี ขณะดูดเลือดให้ปิเปตต์อยู่ในลักษณะเกือบเป็นแนวตั้ง

2. ดูดน้ำยาเจือจางเม็ดเลือดแดงถึงขีด 101 โดยยังคงให้ปิเปตต์อยู่ในลักษณะเกือบเป็นแนวตั้ง เพื่อป้องกันการเกิดฟองอากาศในกระเปาะปิเปตต์

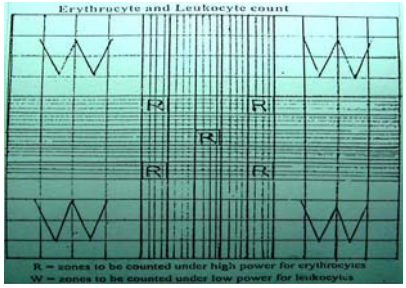
3. จับปิเปตต์ให้อยู่ในแนวราบ และใช้นิ้วปิดปลายปิเปตต์ไว้ แล้วถอดลูกยางเบอร์ 6 หรืออุปกรณ์ดูดเลือดด้วยปิเปตต์ขนาดเล็กออก

4. จับปิเปตต์โดยปิดปลายทั้งสองข้างด้วยหัวแม่มือและนิ้วกลาง แล้วสะบัดข้อมือกลับไปกลับมาประมาณ 3-5 นาที เพื่อผสมเลือดและน้ำยาเจือจางเม็ดเลือดให้เข้ากัน

5. หยดสารละลายจากปิเปตต์ 3-4 หยด แรกทิ้งไปบนกระดาษทิชชูที่สะอาด เพราะส่วนนี้จะอยู่ที่ก้านปิเปตต์ไม่ได้ผสมกับเลือด

6. หยดสารละลายตรงร่องแผ่นแก้วนับเม็ดเลือดที่ปิดกระจกปิดทับมาตรฐานไว้เรียบร้อยแล้ว โดยให้ปิเปตต์ทำมุมกับแผ่นแก้วนับเม็ดเลือดประมาณ 45°C ใช้นิ้วปิดปลายด้านบนของปิเปตต์ไว้ เพื่อควบคุมให้สารละลายหยดลงบนแผ่นแก้วนับเม็ดเลือดพอดีจากนั้นตั้งทิ้งไว้ประมาน 3 นาที เพื่อให้เม็ดเลือดแดงหยุดนิ่ง

7. นับจำนวนเม็ดเลือดแดงด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้เลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยายต่ำ (10x-40x) ในช่อง R ทั้ง 5 ช่อง ของแผ่นแก้วนับเม็ดเลือด นับจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมดรวมกันดังแสดงในรูปที่ ก.1



ภาพที่ ก.1 พื้นที่การนับเม็ดเลือดแดงด้วยกล้องจุลทรรศน์ในช่อง R ที่แผ่นแก้วนับเม็ดเลือด
ที่มา: Terry, 1995

การคำนวณจำนวนเม็ดเลือดแดง

จำนวนเม็ดเลือดแดงต่อลูกบาศก์มิลิเมตร = จำนวนเม็ดเลือดแดงที่นับได้ทั้งหมดใน 5 ช่อง (R) X 10 (0.10 mm. depth) X 5 (1/5 sg sq.mm.) x 200(1:200 dilution)

3. การตรวจนับจำนวนเม็ดเลือดขาว (White Blood Cell) (Terry, 1995)

ทำการนับเม็ดเลือดขาวด้วยวิธี Manual method อาศัยการเจือจางเลือดก่อนด้วยปิเปตต์นับเม็ดเลือดขาวแล้วทำการนับบนแผ่นแก้วนับเม็ดเลือด โดยใช้กล้องจุลทรรศน์และการคำนวณ

เมื่อเจือจางเลือดด้วยน้ำยานับเม็ดเลือดขาว ซึ่งน้ำยาจะคงสภาพเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดงที่มีนิวเคลียสเหมือนกันไว้ได้ในสัดส่วนที่เหมาะสม ซึ่งขนาดเม็ดเลือดขาวโดยทั่วไปจะมีขนาดใหญ่กว่าเม็ดเลือดแดงประมาณสองเท่า จำนวนเม็ดเลือดขาวที่นับได้บนแผ่นแก้วนับเม็ดเลือดซึ่งทราบปริมาณที่แน่นอน จะสามารถคำนวณกลับไปเป็นจำนวนเม็ดเลือดขาวในเลือดได้

อุปกรณ์

1. ปิเปตต์นับเม็ดเลือดขาว
2. ลูกยางเบอร์ 6 หรือ อุปกรณ์ดูดเลือดด้วยปิเปตต์ขนาดเล็ก
3. แผ่นแก้วนับเม็ดเลือดและกระจกปิดทับมาตรฐาน
4. กล้องจุลทรรศน์
5. อุปกรณ์ช่วยนับ (Counter)

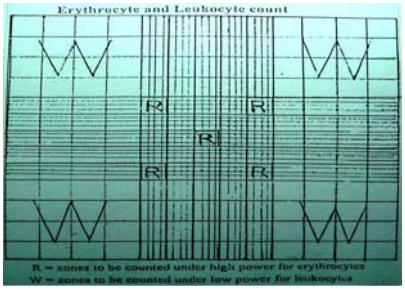
สารเคมี

1. น้ำยาเจือจางเม็ดเลือดขาว NaCl 0.85%

วิธีการ

1. ผสมเลือดที่สารป้องกันเลือดแข็งตัวให้เข้ากันแล้วดูดเลือดจากหลอดเก็บเลือดเข้าปิเปตต์นับเม็ดเลือดขาว ให้ถึงขีด 0.5 พอดี ขณะดูดเลือดให้ปิเปตต์อยู่ในลักษณะเอียงประมาณ 45°C
2. ดูดน้ำยาเจือจางเม็ดเลือดขาวถึงขีด 11 โดยให้ปิเปตต์อยู่ในลักษณะเอียงประมาณ 45°C
3. จับปิเปตต์ให้อยู่ในแนวราบ และใช้นิ้วปิดปลายปิเปตต์ไว้ แล้วถอดลูกยางเบอร์ 6 หรืออุปกรณ์ดูดเลือดด้วยปิเปตต์ขนาดเล็กออก
4. จับปิเปตต์โดยปิดปลายทั้งสองข้างด้วยหัวแม่มือและนิ้วกลาง แล้วสะบัดข้อมือกลับไปกลับมาประมาณ 3-5 นาที เพื่อผสมเลือดและน้ำยาเจือจางเม็ดเลือดให้เข้ากัน ทำให้เม็ดเลือดขาวมีการกระจายตัวดีไม่เกาะเป็นกลุ่ม
5. หยดสารละลายจากปิเปตต์ 3-4 หยด ทิ้งไปเพราะส่วนนี้อาจไม่ได้ผสมกับเลือด
6. หยดสารละลายต่อไปลงตรงร่องแผ่นแก้วนับเม็ดเลือด

7. นับจำนวนเม็ดเลือดขาวด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้เลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยายต่ำ (10x) ในช่อง W ที่มุมทั้ง 4 ที่แผ่นแก้วนับเม็ดเลือด นับจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมดมารวมกัน แล้วคำนวณเป็นเม็ดเลือดขาวทั้งหมดต่อ 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร (cu mm^3) ดังแสดงในรูปที่ ก.2



แผนภาพที่ ก.2 พื้นที่การนับเม็ดเลือดขาวด้วยกล้องจุลทรรศน์ในช่อง W ที่แผ่นแก้วนับเม็ดเลือด
ที่มา: Terry, 1995

การคำนวณค่าเม็ดเลือดขาว

จำนวนเม็ดเลือดขาวต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร = จำนวนเม็ดเลือดขาวที่นับได้ทั้งหมดใน 4 ช่อง (W) X 2.5 [10/4] X20 [1:20]

4. การหาสัดส่วนเม็ดเลือดขาวชนิดต่าง ๆ และสัดส่วนของเม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอร์โรฟิลต่อลิมโฟซัยต์ (H/L ratio)

อุปกรณ์

1. แผ่นสไลด์
2. กล้องจุลทรรศน์
3. นาฬิกาจับเวลา

สารเคมี

1. Giemsa- Wright's buffer
2. Buffer

วิธีการ

1. นำตัวอย่างเลือดมาทำการสเมียร์เลือดบนแผ่นสไลด์แล้วตากให้แห้งในอากาศ
2. วางแผ่นสไลด์ที่ทำการสเมียร์เลือด และแห้งมาวางบนถาดสำหรับย้อม โดยวางด้านที่มีเลือดหงายขึ้น

3. หยดสีย้อม Giemsa-Wright's buffer ให้ท่วมแผ่นฟิล์มเลือดเป็นเวลา 3 นาที หยดบัฟเฟอร์ 1-2 หยดลงบนสีย้อมบนแผ่นสไลด์

4. หยดสีย้อม Giemsa-Wright's buffer ให้ท่วมแผ่นฟิล์มเลือดอีกครั้งทิ้งไว้ 3 นาที ชะล้างสีย้อมบนแผ่นสไลด์ด้วยน้ำสะอาด

5. ปล่อยทิ้งไว้ให้แห้ง นำแผ่นสไลด์ที่ย้อมแล้วมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้เลนส์หัวน้ำมัน (Oil immersion) ที่มีกำลังขยาย 100x ซึ่งประกอบด้วยเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟซัยต์ เฮทเทอร์โรฟิล โมโนซัยต์ อีโอซิโนฟิล และแบโซฟิล

วิธีการคำนวณสัดส่วนของเม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอร์โรฟิลต่อลิมโฟซัยต์ (H/L ratio)

$$\text{H/L ratio} = \frac{\text{จำนวนเม็ดเลือดขาวชนิดเฮทเทอร์โรฟิล}}{\text{จำนวนเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟซัยต์}}$$

5. การวิเคราะห์ค่ายูเรียไนโตรเจนในเลือด (Blood urea nitrogen) (Annino and Giese 1976)

ทำการวัดค่ายูเรียไนโตรเจนในเลือดด้วยวิธี Direct conensation method ยูเรียในซีรัมทำปฏิกิริยากับ Diacetyl monoxime ในสารละลายที่เป็นกรด ได้แก่ Diazine derivative ซึ่งมีสีชมพูให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

อุปกรณ์

1. ไมโครปิเปตต์ขนาด 20, 100 และ 1,000 ไมโครลิตร
2. หลอดทดลองฝาเกลียว (Screw cap tube)
3. เครื่องให้ความร้อน (Hot plate)
4. คิวเวท
5. เครื่อง Spectophotometer

สารเคมี

1. Stock ferric chloride-phosphoric acid reagent

ละลาย $FeCl_3$ $6H_2O$ จำนวน 15 กรัม ในน้ำกลั่น 30 มล. เติม H_3PO_4 (85%) จำนวน 300 มล. ผสมให้เข้ากัน ปรับปริมาตรให้ครบ 450 มล. เก็บในขวดสีน้ำตาล

2. Acid reagent

ผสม conc. H_2SO_4 จำนวน 150 มล. ลงในน้ำกลั่น 500 มล. เติม Stock ferric chloride-phosphoric acid reagent จำนวน 1 มล. ผสมให้เข้ากัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มล.

3. Color reagent

ละลาย Diacetyl monoxime จำนวน 1.7 กรัม และ Thiosemicarbazide จำนวน 0.3 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มล. ผสมให้เข้ากัน ปรับปริมาตรจนครบ 1,000 มล. กรองด้วยกระดาษกรอง เก็บในขวดสีน้ำตาล

4. Stock BUN standard ความเข้มข้น 100 มก%

ละลาย Urea จำนวน 214.2 มก. ใน 0.1 N HCl ปรับให้ได้ 100 มล. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C

5. Working BUN standard ละลาย Stock BUN standard ด้วย 0.1 N HCl ให้ได้ความเข้มข้น 10, 20, 30 และ 40 มก% เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C

วิธีการ

1. ดูดซีรัม หรือ BUN standard (10, 20, 30 และ 40 มก%) หรือ น้ำกลั่น ปริมาตร 20 มล. ลงในหลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 16x125 มม.
2. เติมสาร Color reagent ปริมาตร 3.0 มล. ผสมให้เข้ากัน
3. เติม สาร Acid reagent ปริมาตร 2.0 มล. ผสมให้เข้ากัน ปิดฝาให้สนิท
4. ต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำมาแช่ในน้ำแข็งเป็นเวลา 5 นาที
5. วัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยใช้ Tube blank ปรับให้ค่าดูดกลืนแสงเป็น 0

ตารางที่ ก.1 วิธีการวิเคราะห์ยูเรียไนโตรเจนในเลือด

สารที่เติม	**Blank**	**Standard**	**Unknown**
น้ำกลั่น (ไมโครลิตร)	20	-	-
Standard (ไมโครลิตร)	-	20	-
Unknown (ไมโครลิตร)	-	-	20
Color reagent (มล.)	3.0	3.0	3.0
Acid reagent (มล.)	2.0	2.0	2.0

วิธีการคำนวณ

การหาความเข้มข้นโดยการอ่านค่าความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน

หมายเหตุ

1. สารประกอบที่มีสูตรโครงสร้างเป็น R1-NH-CO-NH-R2 โดย R1 เป็น H หรือ Single aliphatic redical และ R2 ไม่ใช่ Acyl redical สามารถเกิดปฏิกิริยากับ Diacetyl monoxime

2. Ferric chloride เป็น Oxidizing agent หน้าที่กำจัด Hydroxylamine สามารถใช้ Potassium persulfate, Arsenic acid, Perchloric acid, Cations ($Cu^{2+,}$ $Sb^{3+,}$ $Mn^{2+,}$ Cd^{2+}) แทนได้

3. Thiosemicarbazide ทำให้สี Diazine derivative เข้มขึ้น แต่สามารถใช้ Glucuronolactone หรือ Phenyl anthranilic acid แทนได้

4. สีของ Diazine derivative มีความคงตัวประมาณ 10-15 นาที เพราะถูกทำลายโดยแสงได้

5. ยูเรียในซีรัมมีความคงตัวที่อุณหภูมิห้องได้นานอย่างน้อย 1 วัน ถ้าไว้ที่อุณหภูมิ 4°C จะอยู่ได้หลายวัน และถ้าต่ำกว่า 0°C จะอยู่ได้นาน 5 เดือน

6. ซีรัมที่มีฮีโมโกลบิน และบิลิรูบินปนอยู่เล็กน้อย จะไม่รบกวนการตรวจวัด

7. การคำนวณ Stock BUN standard solution จากสูตรของยูเรียมีดังนี้คือ NH_2-CO-NH_2 โดยที่น้ำหนักอะตอมของ N = 14, C = 12, O = 16 และ H = 1 เมื่อต้องการยูเรียจำนวน 28 มก. ต้องชั่งยูเรีย 60 มก. ดังนั้นถ้าต้องการยูเรีย 100 มก. ต้องชั่งยูเรียเท่ากับ (60 x 100) x (1/28) = 214.2 มก.

6. การวิเคราะห์แอมโมเนีย (Ammonia) (Willis et al., 1996)

ทำการวัดค่าแอมโมเนียด้วยวิธี Colorimetric method วิธีการนี้สามารถใช้วิเคราะห์ได้ทั้งแอมโมเนีย และ Total Kjeldahl nitrogen โดยดัดแปลงมาจากวิธีการเดิมที่เคยใช้

อุปกรณ์

1. ไมโครปิเปตต์ขนาด 1 และ 5 มล.
2. หลอดทดลองฝาเกลียว (Screw cap tube)
3. เครื่องให้ความร้อน (Hot plate)
4. คิวเวท
5. เครื่อง Spectrophotometer
6. เครื่องชั่ง
7. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
8. Vortex

สารเคมี

1. $LiCO_3$

ละลาย $LiCO_3$ (99%) จำนวน 5 กรัม ในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มล.

2. Salicylate reagent

เตรียมโดยใช้น้ำกลั่นร้อน ผสมกับสารเคมีดังนี้ และปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มล.

- Sodium salicylate (Anhydrous) จำนวน 32 กรัม
- Trisodium phosphate, Sodium phosphate tribasic dodecahydrate หรือ $Na_3PO_4*12H_2O$ จำนวน 40 กรัม
- Sodium nitropentacyanoferrate (III) (Sodium triprusside) จำนวน 0.5 กรัม

3. Hypochlorite

เตรียมสาร Clorox ที่มี Sodium hypochlorite เป็นส่วนประกอบ 5-5.25% จำนวน 50 มล. ผสมในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มล. (สารละลายเก็บได้นานประมาณ 2 เดือน ในอุณหภูมิห้อง และพ้นแสง)

4. Ammonium standard (1,000 ppm)

เตรียมสารละลายมาตรฐานจาก Ammonia chloride จำนวน 3.8406 กรัม ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มล. ด้วย Li_2CO_3 (ที่เตรียมจาก 6.3.1)

ตารางที่ ก.2 วิธีการเตรียมสารละลายแอมโมเนียมาตรฐาน

ความเข้มข้น (ppm)	**ปริมาณ Ammonium standard (มิลลิลิตร)**	**Li_2CO_3 (มิลลิลิตร)**
0	0	50.00
5	0.25	49.75
10	0.50	49.50
20	1.00	49.00
40	2.00	48.00

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง 0.25 กรัม เติมสารละลาย Li_2CO_3 จำนวน 50 มล. นำไป Centrifuge ที่ความเร็ว 30,000 rpm เป็นเวลา 15 นาที
2. ดูดสารละลายส่วนใสมาจำนวน 0.5 มล. ใส่ในหลอดทดลองฝาเกลียว โดยพยายามอย่าให้สารละลายติดบริเวณขอบหลอดทดลอง
3. เติม สาร Salicylate reagent จำนวน 4 มล. เขย่าด้วย Vortex

4. เติม Hypochlorite จำนวน 1 มล. เขย่าด้วยเครื่อง Vortex วางไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

5. วัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 685 นาโนเมตร โดยใช้ Tube blank ปรับให้ค่าดูดกลืนแสงเป็น 0

วิธีการคำนวณ

การหาความเข้มข้นโดยการอ่านค่าความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน

7. การวิเคราะห์ไคติน (Chitin) (Hornung and Stevenson 1971)

วิธีการนี้ใช้ด่าง (NaOH) ในการย่อยโปรตีน และใช้เมทานอล (MeOH) เพื่อล้างสารอินทรีย์ต่าง ๆ ออก

อุปกรณ์

1. หลอดทดลองฝาเกลียว (Screw cap tube)
2. เครื่องกลั่นโปรตีน
3. เครื่องให้ความร้อน (Hot plate)
4. เครื่องชั่ง
5. กระดาษกรอง

สารเคมี

1. NaOH (1 N)

   ละลาย NaOH จำนวน 40 กรัม ในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มล.

2. MeOH

วิธีการ

1. ทำการชั่งตัวอย่าง 0.4 กรัม เติมสาร NaOH (1 N) ให้ท่วม นำไปต้มที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง

2. เมื่อครบเวลานำตัวอย่างมากรองด้วยกระดาษกรอง Watman เบอร์ 1 แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นร้อน 3-4 ครั้ง

3. เติมสาร MeOH ให้ท่วมตัวอย่าง

4. นำกระดาษกรองที่มีตัวอย่างไปอบให้แห้ง

5. นำกระดาษกรองเปล่า (Blank) และกระดาษกรองที่มีตัวอย่างมาทำการกลั่นไนโตรเจนและไตรเตรทด้วยสารละลาย HCl (0.1N)

6. คำนวณค่าไนโตรเจนตามวิธีของการย่อยโปรตีน

วิธีการคำนวณ

นำค่าไนโตรเจนที่คำนวณได้ มาคูณด้วย 14.51 จะได้ % ไคติน

% ไคติน = (ไนโตรเจน x 14.51) x 100

8. การวิเคราะห์กรดไขมันระเหยได้ (Zdunczyk et al., 2005)

วิธีการนี้ใช้กรด (Formic acid) ในการสกัดกรดไขมันจาก Digesta และใช้เครื่อง Gas chromatography (GC) ในการแยกและตรวจสอบปริมาณกรดไขมันระเหยได้ในแต่ละชนิด

อุปกรณ์

1. ไมโครปิเปตต์ขนาด 200 ไมโครลิตร
2. เครื่องชั่ง
3. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
4. Vortex
5. ไมโครทิว
6. Vial

สารเคมี

1. Formic acid

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง 0.2 กรัม เติมสาร Formic acid จำนวน 200 ไมโครลิตร ลงในไมโครทิว
2. ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex
3. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 × g เป็นระยะเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4°C
4. ดูดส่วนใสด้านบนมาใส่ใน Vial สีชา
5. นำไปฉีดด้วยเครื่อง Gas chromatography

9. การวิเคราะห์ภูมิคุ้มกันรวม

อุปกรณ์

1. ไมโครปิเปตต์ขนาด 2, 20, 200, 1000 ไมโครลิตร
2. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
3. เครื่อง Spectrophotometer

4. Vortex
5. Microtube
6. Plat well

สารเคมี

1. Polyethylene glycol (30%)

   ละลาย Polyethylene glycol จำนวน 12 กรัม ใน DI water ปรับปริมาตรให้ครบ 40 มล.

2. Lowy reagent

   เติมน้ำ DI water จำนวน 40 มล. ลงในขวด Lowy reagent เขย่าให้เข่ากันแล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4°C

3. Folon 2 ciocalten's phenol reagent

   ถ่ายสาร Folon 2 ciocalten's phenol reagent ลงในขวดเปล่า เติมน้ำ DI water จำนวน 80 มล. เขย่าให้เข่ากันแล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4°C

4. สารละลาย Protein standard (1,000 ไมโครลิตร/มล.)

   เติมน้ำ DI water ในขวดที่มี Protein standard 2 มิลลิกรัม เขย่าให้เข่ากันแล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4°C การเตรียมสารละลายโปรตีนมาตรฐาน โดยเตรียมจาก Protein standard ที่มีความเข้มข้น 1,000 ไมโครลิตร/มล.

ตารางที่ ก.3 วิธีการเตรียมสารละลายโปรตีนมาตรฐาน

ความเข้มข้น (ไมโครลิตร/มล.)	**ปริมาณ Protein standard (ไมโครลิตร)**	**DI water (ไมโครลิตร)**
0	0	300
200	60	240
400	120	180
600	180	120
800	240	60
1,000	300	0

วิธีการ

1. ดูดพลาสมาจำนวน 72 ไมโครลิตร และ Polyethylene glycol (30%) จำนวน 18 ไมโครลิตร ลงในหลอดไมโครทิว

2. ผสมให้เข้ากันโดยใช้ Vortex

3. วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที

4. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,500 × g เป็นระยะเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4°C

5. ดูดส่วนใสด้านบนมาใส่ในไมโครทิวอันใหม่ ทำการเจือจางให้ได้ 40 เท่า

6. นำพลาสมาที่ตกตะกอนด้วย Polyethylene glycol (30%) จากข้อ 1 หรือพลาสมาที่เจือจาง 80 เท่า หรือโปรตีนที่ระดับความเจือจางต่าง ๆ จำนวน 60 ไมโครลิตร

7. เติมสาร Lowry reagent จำนวน 60 ไมโครลิตร วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที

8. เติม Folin 2 ciocalten's phenol reagent จำนวน 30 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 45 นาที

9. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,500 × g เป็นระยะเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4°C

10. ดูดส่วนใสด้านบนใส่ลงใน Plat well ช่องละ 50 ไมโครลิตร ทำตัวอย่างละ 2 ซ้ำ

11. นำไปวัดค่าความดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตร

วิธีการคำนวณ

การหาความเข้มข้นโดยการอ่านค่าความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน ซึ่งได้แก่ ปริมาณโปรตีนในพลาสมาที่ไม่ได้ตกตะกอน (Albumin and globulin) และปริมาณโปรตีนในพลาสมาที่ตกตะกอน (Albumin)

ปริมาณโปรตีนในพลาสมาที่ไม่ได้ตกตะกอน (A)

= ความเข้มข้นของโปรตีน x จำนวนเท่าที่เจือจาง (80)

ปริมาณโปรตีนในพลาสมาที่ตกตะกอน (B)

= ความเข้มข้นของโปรตีน x 1.25 x จำนวนเท่าที่เจือจาง (40)

ดังนั้น Total immunoglobulin = A-B

10. การวิเคราะห์ปริมาณไลโซไซม์ (Kreukniet et al., 1994)

วิธีการนี้ใช้ *Micrococcus lysodeikticus* เป็นเซลล์สับสเตรท (Substrate) เพื่อดูความสามารถในการทำงานของไลโซไซม์ ต่อการทำลาย *Micrococcus lysodeikticus*

อุปกรณ์

1. ไมโครปิเปตขนาด 20, 200, 1000 ไมโครลิตร
2. Plat well
3. Shaker
4. เครื่อง Spectrophotometer

สารเคมี

1. Phosphate citrate buffer (0.05M, pH 6.0, 0.09% NaCl) โดยทำการเตรียมสารดังนี้

- Citric acid (0.1M)

ละลาย Anhydrous citric acid จำนวน 1.9210 กรัม ใน DI water ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มล.

- Phosphate solution (0.2M)

ละลาย Na_2HPO_4 จำนวน 2.8400 กรัม ใน DI water ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มล. ผสมสารละลาย 0.1M Citric acid จำนวน 38 มล. (จากข้อ 9.3.1.1) และ 0.2M Phosphate solution จำนวน 62 มล. (จากข้อ 9.3.1.1) และเติม NaCl จำนวน 0.09 กรัม ผสมให้เข้ากัน

2. *Micrococcus lysodeikticus* (0.3 มก. /มล.)

ละลาย *Micrococcus lysodeikticus* จำนวน 0.0120 กรัม ในสารละลาย Phosphate citrate buffer (จากข้อ9.3.1) จำนวน 40 มล. (เตรียมก่อนลงมือทำ และต้องเก็บในน้ำแข็งตลอดเวลา)

3. สารละลาย Lysozyme standard (25 ไมโครลิตร/มล.)

เตรียมสารละลายไลโซไซม์มาตรฐาน โดยเตรียมจาก Lysozyme standard ที่มีความเข้มข้น 25 ไมโครลิตร/มล.

ตารางที่ ก.4 วิธีการเตรียมสารละลายไลโซไซม์มาตรฐาน

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มล.)	**ปริมาณ Lysozyme standard (ไมโครลิตร)**	**Phosphate citrate buffer (ไมโครลิตร)**
0	0	500
2.5	50	450
5.0	100	400
10	200	300
15	300	200
20	400	100

วิธีการ

1. ทำการดูดซีรัม จำนวน 10 ไมโครลิตร หรือไลโซไซม์ที่ระดับความเจือจางต่าง ๆ จำนวน 10 ไมโครลิตรลงใน Plat well (3 ซ้ำ)
2. เติมสารละลายเชื้อ *Micrococcus lysodeikticus* จำนวน 190 ไมโครลิตร
3. เขย่าด้วยเครื่อง Shaker เป็นระยะเวลา 5 นาที
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร โดยทำการปรับค่า Blank ให้เป็น 0
5. เขย่าด้วยเครื่อง Shaker อีกครั้ง เป็นระยะเวลา 30 นาที
6. วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ทำการปรับค่า Blank ให้เป็น 0

วิธีการคำนวณ

การหาความเข้มข้นโดยการอ่านค่าความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน

11. การตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์อีโคไล (*E. coli*), ซัลโมเนลา (*Salmonella* spp.) และแลคโตบาซิลัส (*Lactobacillus* spp.)

เป็นวิธีการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์เฉพาะที่มีชีวิตอยู่จริง และสามารถเพิ่มจำนวนเป็นจุดโคโลนีได้ในอาหารวุ้น โดยถือหลักว่าเซลล์จุลินทรีย์ 1 เซลล์ เจริญทับกันเป็นหนึ่งโคโลนี การนับจำนวนจะให้ผลที่แม่นยำเมื่อจานเพาะเชื้อมีเชื้ออยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี วิธีการเลี้ยงเชื้อโดยใช้เทคนิค Dilution plate count ซึ่งเป็นเทคนิคการทำให้เชื้อ หรือตัวอย่างเจือจางลงด้วยสารละลาย Diluent ที่ประกอบด้วย Sodium chloride 8.5 กรัม และ DI water 1,000 มล. ทำการเจือจางเพิ่มครั้งละ 10 เท่า (Ten fold serial dilution) ทุกขั้นตอนต้องดำเนินภายใต้สภาพปลอดเชื้อ

อุปกรณ์

1. จานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ MCK agar, XLD agar และ MRS Broth)
3. ปิเปตต์ Steriled ขนาด 0.1 และ 1.0 มล.
4. ตะเกียง พร้อมแอลกอฮอล์ 70-95%
5. ขวดฉีดแอลกอฮอล์ 70%
6. Incubator
7. Pipette filler
8. Vortex

9. หม้อนึ่ง

10. แผ่นให้ความร้อน (Hot plate)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. MacCONKEY-Agar (MCK agar) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อคัดเลือกเฉพาะสำหรับให้เชื้อบางชนิดขึ้น (Selective medium) โดยใช้ในการทดสอบหาจุลินทรีย์ *E. coli* สามารถเตรียมได้จาก MCK agar ผง โดยชั่งน้ำหนักอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป 50 กรัมต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร ปิดผา และนึ่งในหม้อนึ่งที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้ความร้อนลดลงจนมือจับได้ จึงนำมาเทลงในจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

2. Xylose-Lysine Deoxycholate Agar (XLD agar) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อคัดเลือกเฉพาะ ที่ใช้ในการทดสอบหาจุลินทรีย์ *Salmonella* spp. สามารถเตรียมได้จาก XLD agar ผง โดยชั่งน้ำหนักอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป 56.68 กรัมต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร ปิดผา และต้มที่อุณหภูมิ 50°C จนกระทั่งละลายเป็นเนื้อเดียวกันหมด สังเกตจากอาหารมีลักษณะใสไม่มีเม็ดอาหารติดอยู่ข้างขวด ตั้งทิ้งไว้ให้ความร้อนลดลงจนมือจับได้ จึงนำมาเทลงในจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

3. Lactobacillus MRS Broth (MRS Broth) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อคัดเลือกเฉพาะ ที่ใช้ในการทดสอบหาจุลินทรีย์ *Lactobacillus* spp. สามารถเตรียมได้จาก MRS Broth ผง โดยชั่งน้ำหนักอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป 55.15 กรัม และผงวุ้น 15.0 กรัมต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร ปิดผา และนึ่งในหม้อนึ่งที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้ความร้อนลดลงจนมือจับได้ จึงนำมาเทลงในจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

การเพาะเชื้อ

1. เจือจางตัวอย่าง โดยชั่งตัวอย่าง ซึ่งในการทดลองนี้คือ Digesta บริเวณลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่ส่วน Cecum ของไก่เนื้อ จำนวน 1 กรัม ใส่ในสารละลาย Diluent ปริมาตร 4 มล. จะได้สารละลายเจือจางเท่ากับ 1:5 เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นใช้ปิเปตดูดสารละลายเจือจาง 1 มิลลิลิตร ใส่ในสารละลาย Diluent ปริมาตร 4 มล. จะได้สารละลายเจือจางเท่ากับ $1:10^{1}$ ทำการเจือจางต่อไปเรื่อย ๆ จนได้สารละลายเจือจาง $1:10^{6}$

2. ทำการ Spread plate โดยใช้ไมโครปิเปตต์ดูดสารละลาย 0.1 มล. ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วเกลี่ยเชื้อให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ระดับความเจือจาง 2 ระดับที่เชื้อสามารถขึ้นได้ประมาณ 30-300 โคโลนีต่อจานเพาะเลี้ยง

3. ทำการบ่มเชื้อโดย *E. coli* บ่มที่อุณหภูมิ 37°C ในสภาวะที่มีออกซิเจน นานเป็นเวลา 24 ชั่วโมง *Lactobacillus* spp. บ่มที่อุณหภูมิ 37°C ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน นานเป็นเวลา 48 ชั่วโมง บ่มที่อุณหภูมิ 37°C ในสภาวะที่มีออกซิเจน นานเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

วิธีการคำนวณ

ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ (cfu/ml) = [(จำนวนโคโลนีที่นับได้ x ระดับความเจือจาง)] x (1/ปริมาณตัวอย่าง)

12. การวิเคราะห์พลังงานใช้ประโยชน์จริงของวัตถุดิบอาหารสัตว์ (True metabolizable energy) (Sibbald, 1976)

อุปกรณ์

1. ไก่เนื้อโตเต็มวัยเพศผู้
2. กรงขังเดี่ยว (Metabolic cage)
3. เครื่องชั่ง
4. กรวยสำหรับ Force feeding

วิธีการ

1. ไก่ตัวผู้โตเต็มวัยน้ำหนักประมาณ 2.4 กิโลกรัม ขังแยกในกรง Metabolic cage ทำการอดอาหารเป็นเวลา 21 ชั่วโมง (ไม่อดน้ำ)

2. เมื่อครบตามระยะเวลา ทำการ Force feeding โดยใช้วัตถุดิบอาหารจำนวน 20 กรัม โดยสอดกรวย ไปยังกระเพาะพัก และเทวัตถุดิบอาหารเข้าไปให้หมด

3. เมื่อครบระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังการ Force feeding ทำการเก็บมูล นำมูลทั้งหมดไปอบให้แห้ง และบดเพื่อนำไปวัดค่าพลังงานโดยใช้เครื่อง Bomb calorimeter

วิธีการคำนวณ

$$TME\ (kcal/g) = [(G.E._f \times X)-(Y_{ef}-Y_{ec})]/ X$$

โดย $G.E._f$ = ค่าพลังงาน Gross energy ของวัตถุดิบอาหาร (kcal/g.)

Y_{ef} = ค่าพลังงาน Gross energy ของมูลในไก่ที่ได้รับการ Force feeding

Y_{ec} = ค่าพลังงาน Gross energy ของมูลในไก่ที่ไม่ได้รับการ Force feeding

X = น้ำหนักวัตถุดิบอาหารที่ใช้ Force feeding

ประวัติผู้เขียน

นางสาวจรณี จิตสัจจพงศ์ เกิดเมื่อวันที่ 7 ตุลาคม พ.ศ. 2527 ที่ อำเภอเมือง จังหวัดพัทลุง สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้นจากโรงเรียนเทศบาล 1 กิตติขจร อำเภอเมือง จังหวัดตาก สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนชะอำคุณหญิงเนื่องบุรี อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตรใน ปีการศึกษา 2549 จากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา หลังจากนั้นในปีการศึกษา 2550 เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโท สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ในระหว่างการศึกษาได้รับทุนการศึกษาสำหรับผู้มีศักยภาพเข้าศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี