รหัสโครงการ SUT3-304-54-24-01

รายงานการวิจัย

ผลของซีลีเนียมในรูปแบบอินทรีย์และอนินทรีย์ต่อคุณภาพตัวอสุจิและส่วนประกอบของไขมันในตัวอสุจิของสุกรพ่อพันธุ์

Effect of organic and inorganic selenium sources on sperm quality and sperm lipid composition of boar

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT3-304-54-24-01

รายงานการวิจัย

ผลของซีลีเนียมในรูปแบบอินทรีย์และอนินทรีย์ต่อคุณภาพตัวอสุจิและส่วนประกอบของไขมันในตัวอสุจิของสุกรพ่อพันธุ์

Effect of organic and inorganic selenium sources on sperm quality and sperm lipid composition of boar

หัวหน้าโครงการ

รองศาสตราจารย์ ดร. โชคชัย วนภู

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

คณะผู้วิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ น. สพ. ดร. ภคนิจ คุปพิทยานันท์

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2553

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

กุมภาพันธ์ 2556

กิตติกรรมประกาศ

กระผมขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่สนับสนุนทุนวิจัย ซึ่งการวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2553 รวมถึงได้ให้การสนับสนุนด้านอุปกรณ์ เครื่องมือ บุคลากรและสถานที่ในการดำเนินการวิจัย ขอขอบคุณ นางสาวประกายดอย ดิษยบุตร ที่ช่วยทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

รศ.ดร. โชคชัย วนภู

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อ

ผลของซีลีเนียมในรูปแบบอินทรีย์และอนินทรีย์ต่อคุณภาพตัวอสุจิและส่วนประกอบของไขมันในตัวอสุจิของสุกรพ่อพันธุ์

การศึกษาครั้งนี้ได้แบ่งการทดลองออกเป็นสองการทดลองคือการผลิตซีลีเนียมยีสต์ (Se-yeast) และการตรวจสอบคุณภาพของน้ำเชื้อของสุกรพ่อพันธุ์เมื่อให้อาหารทางการค้าที่มีการเสริมซีลีเนียมยีสต์ยีสต์และซีลีเนียมอนินทรีย์

การทดลองที่หนึ่งเป็นการผลิตซีลีเนียมยีสต์โดยการคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์จำนวน 14 สายพันธุ์ โดยทำการเลี้ยงในอาหารที่มีการเสริมด้วยโซเดียมซีลีไนด์ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า *Saccharomyces bayanus* สามารถตรึงซีลีเนียมไว้ภายในเซลล์ได้มากที่สุดคือ 6.63 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและมีปริมาณซีลีเนียมต่อน้ำหนักแห้งสูงสุดที่ 2.51 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมและเมื่อเลี้ยงในถังหมักขนาด 5 ลิตรพบว่าการเลี้ยง *S. bayanus* เป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีปริมาณซีลีเนียมต่อน้ำหนักแห้งสูงที่สุดที่ 6.43 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมและสามารถตรึงซีลีเนียมไว้ภายในเซลล์ได้มากที่สุดคือ 6.91 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรในการทดลองที่สองเป็นการตรวจสอบคุณภาพของน้ำเชื้อของสุกรพ่อพันธุ์เมื่อให้อาหารทางการค้าที่มีการเสริม ยีสต์ ซีลีเนียมอนินทรีย์ และซีลีเนียมยีสต์ ในระยะสั้นเพื่อตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อของสุกรพ่อพันธุ์โดยอาหารสูตรที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมและ 2 ผสมยีสต์ 0.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร สำหรับสูตรอาหารที่ 3, 4 และ 5 ผสมซีลีเนียมอนินทรีย์ที่ระดับ 0.15, 0.45 และ 0.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารตามลำดับ ส่วนสูตรอาหารที่ 6, 7 และ 8 ผสมซีลีเนียมยีสต์ที่ระดับ 0.15, 0.45 และ 0.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารตามลำดับ จากการเก็บรวบรวมข้อมูลและวิเคราะห์ลักษณะน้ำเชื้อเช่น ความผิดปกติของตัวอสุจิ การมีชีวิตของตัวอสุจิ การเคลื่อนที่ได้ ปริมาณ ความเข้มข้นและจำนวนอสุจิทั้งหมด พบว่าการเสริมซีลีเนียมยีสต์และซีลีเนียมอนินทรีย์มีแนวโน้มของการเพิ่มขึ้นและรักษาระดับเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิปริมาณน้ำเชื้อของสุกรพ่อพันธุ์เมื่อเทียบกับสุกรพ่อพันธุ์ที่กินอาหารปกติ มากไปกว่านั้นเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติของตัวอสุจิของสุกรพ่อพันธุ์ยังลดลงอีกด้วย แต่การเสริมซีลีเนียมไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของตัวอสุจิ ความเข้มข้นของตัวอสุจิและจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดของน้ำเชื้อในสุกรพ่อพันธุ์ ขณะเดียวกันเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าการเสริมซีลีเนียมอนินทรีย์และซีลีเนียมยีสต์ไม่มีผลต่อค่าโลหิตวิทยาและค่าทางชีวเคมีในเลือดของสุกรพ่อพันธุ์

ABTRACT

Effect of organic and inorganic selenium sources on sperm quality and sperm lipid composition of boar

SELENIUM YEAST/INOGANIC SELENIUM/BOAR/SPERM/BLOOD

In this study, two experiments were conducted to produce selenium enriched yeast (Se-yeast) and to investigate sperm quality of boars fed with diets supplemented with Se-yeast, yeast, and Na_2SeO_3, and of those fed with commercial feed.

In the first experiment, 14 yeast strains from fermentation process for Se-yeast production were screened. The *Saccharomyces bayanus* showed the highest selenium accumulation at 6.36 µg/mL and 2.51 µg/mg dry cell weights within 48 h by optimal Na_2SeO_3 addition at 10 mg/L. The Se-yeast was accumulated gradually with increasing DCW (6.43 µg/mg DCW), and the highest selenium level was achieved at 6.91 µg/mL in a 5 L fermentor for 48 h at 20 mg/L of Na_2SeO_3.

The second experiment was performed to evaluate the short-term effect of yeast, Na_2SeO_3 and Se-yeast on boar's sperm quality. A total of 24 boars were randomly assigned to eight treatment groups. The boars of diet 1 and diet 2, set as controls, were fed with a commercial diet and a commercial feed supplemented with 0.60 mg yeast/kg of diet, respectively. Diets 3, 4 and 5 contained the following supplements, 0.15, 0.45 and 0.60 mg Na_2SeO_3/kg of diet, respectively. Diets 6, 7 and 8 contained 0.15, 0.45 and 0.60 mg Se-yeast/kg of diet, respectively. Data on semen characteristics including sperm abnormalities, sperm viabilities, sperm motilities, volume, concentration and total sperm were collected and analyzed.

The result showed that the supplementation of Se-yeast and Na_2SeO_3 in boar diets was able to increase and maintain sperm motility and volume, which were higher than those of commercial feed ($P>0.05$). Moreover, the sperm abnormalities of boar were decreased whereas sperm viabilities, sperm concentration and total number of sperms were not significantly different ($P>0.05$) in all treatments.

Finally, the supplementation of Na_2SeO_3 and Se-yeast in boar diets did not affect hematological and biochemical values in boar's blood.

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ..... ก

บทคัดย่อภาษาไทย..... ข

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... ค

บทที่ 1 บทนำ..... 1

ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย.....1

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย.....6

สมมติฐานของงานวิจัย.....6

ขอบเขตของโครงการวิจัย.....6

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับและหน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์.....6

ทบทวนวรรณกรรม (reviewed literature)/ สารสนเทศ (information)

สารสนเทศที่เกี่ยวข้อง.....6

บทที่ 2 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลองการผลิตซีลีเนียมยีสต์..... 9

การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์และการเตรียมเชื้อ..... 9

ความเข้มข้นของซีลีเนียมที่เหมาะสมต่อการตรึงซีลีเนียมในยีสต์..... 9

ทำการหมักในถังหมัก (fermenter)..... 9

การวิเคราะห์หาปริมาณของซีลีเนียมที่ตรึงอยู่ในเซลล์ยีสต์..... 10

บทที่ 3 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลองการผลิตซีลีเนียมยีสต์.....11

การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์.....11

การหาระดับความเข้มข้นซีลีเนียมของการผลิตซีลีเนียมยีสต์.....11

การผลิตซีลีเนียมยีสต์โดยถังหมักขนาดเล็ก.....11

บทที่ 4 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลองการตรวจสอบคุณภาพของน้ำเชื้อของสุกรพ่อพันธุ์..... 15

สัตว์ทดลอง..... 15

การให้อาหารและน้ำ..... 15

ทดสอบซีลีเนียมอินทรีย์ในสุกรพ่อพันธุ์..... 15

การวิเคราะห์หาองค์ประกอบในอาหารสุกรพ่อพันธุ์ด้วยวิธี proximate..... .15

การรีดน้ำเชื้อ..... 18

การวิเคราะห์ค่าเคมีในเลือดสุกรพ่อพันธุ์..... 18

การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ..... 19

บทที่ 5 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลองการตรวจสอบคุณภาพของน้ำเชื้อ

ของสุกรพ่อพันธุ์.....20

ศึกษารูปร่างและความผิดปกติของอสุจิโดยการย้อมตัวอสุจิด้วยวิธี
eosin- nigrosin strain……20
ผลของซีลีเนียมในรูปแบบอนินทรีย์ (Na_2O_3Se) และอินทรีย์ (Se-yeast)
ต่อคุณภาพตัวอสุจิ……21
ความแข็งแรงในการเคลื่อนไหวของตัวอสุจิ (Sperm motility)……22
ปริมาตรของตัวอสุจิ……22
ค่าทางโลหิตวิทยาและค่าทางชีวเคมีในเลือดของสุกรพ่อพันธุ์……30
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง.....35
เอกสารอ้างอิง..... 36
ประวัติผู้วิจัย..... 37

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

ตาราง **หน้า**

3.1 Operating condition for total Se determination using ICP-MS……. 10

5.1 องค์ประกอบทางเคมีในอาหารสุกรที่ใช้ในการทดลอง (%)……... 23

5.2 ค่าทางโลหิตวิทยา (Hematology values) ของสุกรพ่อพันธุ์ที่ได้
รับการเสริม yeast, inorganic Se และ Se-yeast ในอาหาร……... 32

5.3 ค่าเม็ดเลือดขาว (Leukocytic values) ของสุกรพ่อพันธุ์ที่ได้รับการเสริม
yeast inorganic Se และ Se-yeast ในอาหาร……... 33

5.4 ค่าทางชีวเคมีในเลือดของสุกรพ่อพันธุ์ที่ได้รับการเสริม yeast inorganic Se
และ Se-yeast ในอาหาร……... 34

5.5 ค่าทางชีวเคมีในเลือดของสุกรพ่อพันธุ์ที่ได้รับการเสริม yeast inorganic Se
และ Se-yeast ในอาหาร…… 34

5.6 ค่าทางชีวเคมีในเลือดของสุกรพ่อพันธุ์ที่ได้รับการเสริม yeast inorganic Se
และ Se-yeast ในอาหาร…… 34

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญรูปภาพ

รูป **หน้า**

3.1 การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์โดยเปรียบเทียบปริมาณซีลีเนียมต่อน้ำหนักแห้ง..... 12
3.2 การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์โดยเปรียบเทียบปริมาณซีลีเนียมต่อน้ำหนักแห้ง..... 12
3.3 การเจริญของยีสต์สายพันธุ์ *S. bayanus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของซีลีเนียมจาก 0 ถึง 60 mg/L..... 13
3.4 ผลกระทบจากความเข้มข้นของซีลีเนียมต่อการตรึงซีลีเนียมไว้ภายในเซลล์ของยีสต์สายพันธุ์ *S. bayanus* ที่เลี้ยงในถังหมักขนาด 5 ลิตร..... 13
3.5 ผลกระทบจากซีลีเนียมความเข้มข้นที่ 20 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อการตรึงซีลีเนียมไว้ภายในเซลล์ของยีสต์สายพันธุ์ *S. bayanus* ที่เลี้ยงในถังหมักขนาด 5 ลิตร..... 14
5.1 ตัวอสุจิสุกร..... 15
5.2 ผลของการเสริม Se-yeast, Na_2O_3Se และ yeast ลงในอาหารทางการค้าต่อความผิดปกติของตัวอสุจิของสุกรพ่อพันธุ์..... 24
5.3 ผลของการเสริม Se-yeast, Na_2O_3Se และ yeast ลงในอาหารทางการค้าต่อการเคลื่อนที่ได้ของตัวอสุจิของสุกรพ่อพันธุ์..... 25
5.4 ผลของการเสริม Se-yeast, Na_2O_3Se และ yeast ลงในอาหารทางการค้าปริมาณของตัวอสุจิของสุกรพ่อพันธุ์..... 26
5.5 ผลของการเสริม Se-yeast, Na_2O_3Se และ yeast ลงในอาหารทางการค้าการมีชีวิตของตัวอสุจิของสุกรพ่อพันธุ์..... 27
5.5 ผลของการเสริม Se-yeast, Na_2O_3Se และ yeast ลงในอาหารทางการค้าความเข้มข้นของตัวอสุจิของสุกรพ่อพันธุ์..... 28
5.7 ผลของการเสริม Se-yeast, Na_2O_3Se และ yeast ลงในอาหารทางการค้าต่อปริมาณทั้งหมดของตัวอสุจิของสุกรพ่อพันธุ์..... 29

บทที่ 1
บทนำ

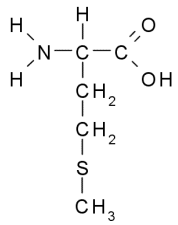
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

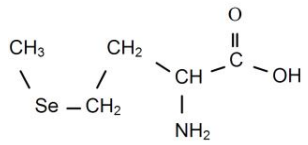
ประเทศไทยมีการใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในรูปแบบของยีสต์ผงมากที่สุด ซึ่งได้มาจากการนำเข้ามาจากต่างประเทศกว่า 90% มีปริมาณการใช้ยีสต์ผงประมาณ 300 ตันต่อปี คิดเป็นมูลค่ากว่า 450 ล้านบาทในขณะเดียวกันก็มีการนำเข้าผลิตภัณฑ์ซีลีเนียมยีสต์เพิ่มมากขึ้นเนื่องจากมีการขยายปริมาณการใช้ซีลีเนียมยีสต์ในอาหารสัตว์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตให้สูงขึ้นตามลำดับ ขณะที่อุตสาหกรรมการผลิตยีสต์ในประเทศไทยมีการผลิตยีสต์จำหน่ายแต่จำนวนไม่มากนัก เนื่องจากประสบปัญหาในการผลิต เช่น การที่ประเทศไทยตั้งอยู่ในเขตร้อนทำให้อุณหภูมิของอากาศสูงส่งผลต่อการรักษาสภาวะที่เหมาะสมและกลไกงานทางจลพลศาสตร์ต่อการผลิตยีสต์ มีการปนเปื้อนจากเชื้อชนิดอื่นเติบโต คุณภาพและอายุการเก็บของยีสต์ที่ยังไม่ได้การทดสอบอายุการเก็บที่แน่นอนก่อน ทำให้ขาดความเชื่อถือและเป็นปัญหาในการขยายการตลาด ปัญหาเหล่านี้จะถูกควบคุมและลดลงโดยการหาสภาวะที่เหมาะสมและกลไกการงานทางจลพลศาสตร์ต่อการผลิตยีสต์ในถังหมักเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตซีลีเนียมยีสต์

การผลิตซีลีเนียมยีสต์จะใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* เนื่องจากเป็นสายพันธุ์ที่เจริญเติบโตเร็ว มีปริมาณโปรตีนสูง ซึ่งจะมีซัลเฟอร์สูงด้วย กระบวนการผลิตซีลีเนียมยีสต์เป็นการให้อาหารแก่สายพันธุ์ยีสต์ที่มีความต้องการซัลเฟอร์สูงเพราะซัลเฟอร์และซีลีเนียมมีลักษณะทางเคมีที่คล้ายกันโดยซีลีเนียมจะรวมเข้าไปในโครงสร้างของโปรตีนของเซลล์ยีสต์โดยแทนที่ซัลเฟอร์ที่มีอยู่ในยีสต์ (Ponce *et al.,* 2002)

ซีลีเนียม (Selenium) เป็นธาตุกึ่งโลหะ มีเลขอะตอมและเลขมวลเท่ากับ 34 และ 78.96 ตามลำดับ คุณสมบัติของซีลีเนียมจะคล้ายกับธาตุซัลเฟอร์ องค์ประกอบของซีลิโนเมทไธโอนีน (Selenomethionine, Se-met) จะเหมือนกับเมทไธโอนีน (Methionine) ยกเว้นซีลีเนียมจะเข้าไปแทนตำแหน่งของซัลเฟอร์อะตอม (รูปที่ 1) ซีลิเนียมอาจเป็นอันตรายต่อสัตว์หากได้รับเกินความต้องการของร่างกาย แต่ซีลีเนียมปริมาณน้อยกลับมีความจำเป็นต่อการทำงานของเซลล์เป็นอย่างมาก (http://en.wikipedia.org/wiki/Selenium)

ในระยะแรกมีการใช้ซีลิเนียมกับสัตว์ในรูปสารอนินทรีย์ เช่น Sodium Selenite หรือ Na_2SeO_3 ซึ่งสัตว์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ต่ำ ต่อจากนั้นจึงเริ่มมีการประยุกต์ใช้ซีลิเนียมให้อยู่ในรูปสารอินทรีย์ เช่น Se-enriched yeast, ซีลิโนเมทไธโอนีนและพบว่าสัตว์สามารถนำไปใช้ได้สูงขึ้นเมื่อเทียบกับสารอนินทรีย์ ซีลีเนียมที่อยู่ในรูปสารอนินทรีย์ถูกนำไปใช้ได้น้อยกว่าสารอินทรีย์เนื่องจากในกระบวนการแมเทบอลิซึมลำดับสุดท้าย สารอนินทรีย์ส่วนใหญ่จะถูกขับออกมาทางปัสสาวะแต่สารอินทรีย์จะถูกดูดซึมกลับเข้าไปที่ตับเพื่อเข้าสู่กลไกอื่นๆ อีกต่อไป





Methionine ($C_5H_{11}NO_2S$) **Se-met ($C_5H_{11}NO_2Se$)**

รูปที่ 1. โครงสร้างทางเคมีของเมทไธโอนีนและซีลิโนเมทไธโอนีน

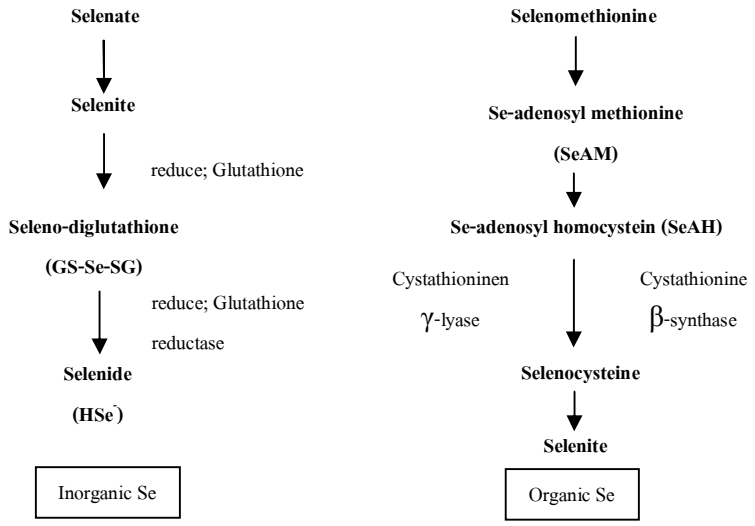
การผลิตซีลีเนียมยีสต์

กระบวนการผลิตยีสต์ที่อุดมด้วยซีลีเนียมเป็นการให้อาหารแก่สายพันธุ์ยีสต์ที่มีความต้องการซัลเฟอร์สูงเพราะซัลเฟอร์และซีลีเนียมมีลักษณะทางเคมีที่คล้ายกันโดยซีลีเนียมจะรวมเข้าไปในโครงสร้างของโปรตีนของเซลล์ยีสต์โดยแทนที่ซัลเฟอร์ที่มีอยู่ในยีสต์

เนื่องจากการเลี้ยงสุกรนับเป็นทางเลือกหนึ่งของเกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์จากการที่สุกรเป็นสัตว์ที่สามารถเลี้ยงได้ทุกพื้นที่และให้ผลผลิตที่คุ้มต่อการลงทุนจึงมีการเลี้ยงสุกรกันอย่างแพร่หลายทำให้มีการพัฒนาและปรับปรุงคุณภาพของสุกรที่ส่งผลต่อปริมาณผลผลิตของสุกรมากยิ่งขึ้น ทั้งนี้ปัจจัยหลักที่ทำให้เกิดการเพิ่มผลผลิตของสุกรขึ้นอยู่กับอัตราการผสมติด ซึ่งเกี่ยวข้องโดยตรงกับสุกรแม่พันธุ์และที่สำคัญไม่น้อยกว่ากันคือ สุกรพ่อพันธุ์ ซึ่งขึ้นอยู่กับสมรรถนะทางการสืบพันธุ์ซึ่งพิจารณาได้จากจำนวนลูกต่อครอกและอัตราการผสมติด ส่วนคุณภาพน้ำเชื้อพิจารณาจากคุณภาพภายนอก เช่น สี กลิ่น ปริมาตรน้ำเชื้อ (มิลลิลิตร) การเคลื่อนที่ของอสุจิ (%) อสุจิมีชีวิต (%) ความผิดปกติของเยื่อหุ้มเซลล์และองค์ประกอบของไขมันในตัวอสุจิ ของสุกรพ่อพันธุ์ ทั้งนี้การใช้ซิลิเนียมยีสต์เป็นทางเลือกหนึ่งที่ใช้เสริมในอาหารสุกรเพื่อช่วยเพิ่มสมรรถนะทางการสืบพันธุ์และคุณภาพน้ำเชื้อของสุกรพ่อพันธุ์

เมแทบอลิซึมของซีลีเนียมในร่างกายสัตว์

ซีลีเนียมในรูปของสารอนินทรีย์ เริ่มต้นด้วย ซีลีเนท (Selenate, Na_2SeO_4) แล้วถูกเปลี่ยนไปเป็นซีลีไนท์(Selenite , Na_2SeO_3) จากนั้นจะถูกรีดิวซ์ด้วย glutathione ให้เป็น seleno-diglutathione (GS-Se-SG) และถูกรีดิวซ์อีกครั้งเป็น ซีลีไนด์ (Selenide, HSe-) โดยเอ็นไซม์ glutathione reductase แต่สำหรับสารอินทรีย์สามารถนำไปใช้ได้รวดเร็วกว่าสารอนินทรีย์ โดย Selenomethionine สามารถเปลี่ยนไปเป็นโปรตีนได้เร็วขึ้น โดยจะเปลี่ยนเป็น Se-adenosyl methionine (SeAM) จากนั้นก็จะเข้าสู่ Se-adeonosyle homocystein (SeAH) จากนั้น Se-adeonosyle homocystein (SeAH) ก็จะเปลี่ยนไปเป็น ซีลีโนซีสเตรีน (Selenocysteine) อย่างรวดเร็วโดยเอ็นไซม์ cystathionine β -synthase และ cystathionine γ - lyase จากนั้นจะกลายเป็นโปรตีนหรือ ซีลีไนท์ หรือ ซีลิเนียม (Se) ดังรูปที่ 2 (Axley and Stadtman, 1989; Ganther, 1966; Hsieh and Ganther, 1975; Hoffman *et al.,* 1907; Esaki *et al.,* 1982; Sunde, 1997).



รูปที่ 2. เมแทบอลิซึมของซีลีเนียมในร่างกายสัตว์

ความสำคัญของคุณภาพน้ำเชื้อในพ่อพันธุ์สุกรเป็นปัจจัยหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการผลิต หากน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกรมีประสิทธิภาพดี ประสิทธิภาพการผลิตของฟาร์มนั้นก็จะดีขึ้นด้วย เป้าหมายหลักที่สำคัญอย่างหนึ่งในการเลี้ยงสุกร คือ การเพิ่มจำนวนลูกสุกรหย่านมต่อแม่ต่อปี ปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อคุณภาพและผลผลิตลูกสุกรที่ดีคือความสมบูรณ์พันธุ์ของพ่อพันธุ์ซึ่งมีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อโดยตรง น้ำเชื้อพ่อสุกรที่มีคุณภาพดีโดยปกติจะมีปริมาตรไม่ต่ำกว่า 150 มิลลิลิตร สีขาวขุ่น ไม่มีเลือดหรือหนองปน กลิ่นคาวเล็กน้อย ค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 7.3-7.8 การเคลื่อนไหวแบบพุ่งไปข้างหน้าไม่ต่ำกว่า 85% ความเข้มข้นของอสุจิมากกว่า 200×10^6 ตัวต่อมิลลิลิตร ตัวตายน้อยกว่า 15% และความผิดปกติของอสุจิแบบปฐมภูมิและแบบทุติยภูมิไม่เกิน 15% คุณภาพน้ำเชื้อพ่อพันธุ์สุกรขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ได้แก่ สายพันธุ์ การจัดการ อายุ ความถี่ในการใช้งาน สิ่งแวดล้อม ความเครียดและโภชนาการ มีรายงานการศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อสุกรหนุ่มอายุ 9 เดือน พบว่ามีความเข้มข้นของอสุจิเฉลี่ย 143×10^6 ตัวต่อซีซี ซึ่งค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับสุกรพ่อพันธุ์ใช้งาน เนื่องจากความสมบูรณ์พันธุ์ยังไม่เกิดเต็มที่ ร่วมกับการถูกฝึกรีดเก็บน้ำเชื้อทำให้เกิดความเครียด ส่งผลให้ร่างกายหลั่ง cortisol ซึ่งมีผลทำให้เกิดการยับยั้งการหลั่งฮอร์โมน gonadotropin-releasing hormone (GnRH) ทำให้ luteinizing hormone (LH) และ follicle stimulating hormone (FSH) ที่ทำหน้าที่กระตุ้นการหลั่งฮอร์โมน testosterone และเซลล์สืบพันธุ์ลดลง กระบวน การผลิตอสุจิจึงลดลง และกระบวนการสันดาปภายในเซลล์ทำให้เกิดอนุมูลอิสระและภาวะ Oxidative stress ภาวะ Oxidative stress คือ ภาวะที่เกิดความไม่สมดุลกันของอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย เกิดขบวนการ lipid peroxidation ขึ้นที่ผิวเซลล์อสุจิทำให้อสุจิตายหรือเกิดความผิดปกติ เนื่องจากโดยปกติในพ่อสุกรใช้งานทั่วไป อสุจิจะมีการเคลื่อนไหวและมีการหายใจในระดับเซลล์หลังจากถูกผลิตที่อัณฑะและถูกเก็บที่ส่วนท้ายของ epididymis ผลจากกระบวนการหายใจระดับเซลล์และความเครียดทำให้เกิดอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพ่อสุกรหนุ่มซึ่งเกิดภาวะ

Oxidative stress มาก เซลล์อสุจิจึงตายและเสียหายเป็นจำนวนมาก ร่วมกับกระบวนการผลิตอสุจิที่ต่ำลง ดังกล่าว ทำให้คุณภาพน้ำเชื้อต่ำกว่าสุกรพ่อพันธุ์ใช้งาน จึงจำเป็นต้องได้รับสารต้านอนุมูลอิสระเพื่อป้องกันความเสียหายที่จะเกิดขึ้น สารอาหารที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ ได้แก่ วิตามินอี วิตามินซีและซีลีเนียมโดยวิตามินอี เป็นวิตามินที่ละลายในไขมัน ถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายและสะสมอยู่บนผนังเซลล์ ทำหน้าที่จับอนุมูลอิสระที่ผ่านจากเลือดเข้ามา ทำให้อนุมูลอิสระหมดพลังงานหรือหมดฤทธิ์ได้

ซีลีเนียมเป็นส่วนประกอบสำคัญของกลูตาไธโอนเปอร์อ็อกซิเดส (Glutathione peroxidase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ป้องกันเซลล์จากปฏิกิริยาออกซิเดชั่น โดยการสลายเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นภายในเซลล์และป้องกันไม่ให้เนื้อเยื่อไขมันและเซลล์ไขมันถูกทำลาย อีกทั้งยังมีความเกี่ยวข้องกับการสร้างโปรตีนของไมโตคอนเดรีย รอบหางอสุจิอีกด้วย โดยทั่วไป พ่อพันธุ์ใช้งานมักได้รับอาหารสุกรสูตรแม่อุ้มท้องเนื่องจากมีพลังงานใกล้เคียงกับระดับที่พ่อสุกรต้องการ แต่วิตามินและแร่ธาตุบางชนิดรวมทั้งซีลีเนียมมีไม่เพียงพอ ซึ่งปริมาณวิตามินอีและซีลีเนียมที่ร่างกายพ่อสุกรต้องการ คือ 52.8 ppm และ 0.3 ppm ตามลำดับ ในขณะที่อาหารสุกรสูตรแม่เลี้ยงลูกมีวิตามินอีและซีลีเนียม 29.5 ppm และ 0.15 ppm ตามลำดับ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและหรือคุณภาพน้ำเชื้อให้ดีขึ้นจึงอาจมีความจำเป็นต้องเสริมวิตามินและสารที่มีประโยชน์ในอาหารให้มากขึ้น โดยซีลิเนียมจะช่วยเพิ่มความแข็งแรงของอสุจิ ช่วยเพิ่มปริมาตรของอสุจิตลอดจนเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิและอสุจิมีชีวิต ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ส่งผลต่ออัตราการผสมติด จำนวนลูกต่อครอกซึ่งถือว่าเป็นเป้าหมายหลักของการผลิตสุกร

1.2. การทบทวนวรรณกรรม (reviewed literature) / สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง

ผลของซีลิเนียมต่อสมรรถนะทางการสืบพันธุ์

Henson.et.al (1983) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการใช้ซีลีเนียมเสริมในอาหารสุกรพ่อพันธุ์โดยใช้ซีลีเนียมในระดับต่างกันได้แก่ 0.05 ppm , 0.15 ppm และ 0.25 ppm ตามลำดับ ให้สุกรกินในอัตรา 2.27 กิโลกรัม/ตัว/วัน จากนั้นวัดระดับฮอร์โมน testosterone ในเลือด พบว่า ซีลิเนียมช่วยเพิ่มระดับฮอร์โมน testosterone ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่สำคัญในกระบวนการผลิตอสุจิและแสดงพฤติกรรมก้าวร้าวและความต้องการทางเพศในสุกรพ่อพันธุ์ได้

ผลของซีลิเนียมต่อคุณภาพน้ำเชื้อ

ซีลีเนียมมีบทบาทในการเพิ่มการเจริญเติบโตของอสุจิโดยมีผลช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตบริเวณอสุจิส่วนหัวและหาง เพื่อช่วยในการเคลื่อนไหวของอสุจิ (Mahan ,1996) นอกจากนี้ซีลิเนียมยังช่วยเพิ่มจำนวน Sertoli cell ซึ่งเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่ในการผลิตอาหารเลี้ยงอสุจิที่ถูก ควบคุมด้วยฮอร์โมน FSH และLH (Marin-Guzman *et al.,* 2000) Kolodziej และ Jacyno (2004) ได้ทำการศึกษาผลของการใช้ซีลิเนียมเสริมในอาหารสุกรโดยได้ทำการทดลองโดยใช้สุกรพ่อพันธุ์จำนวน 40 ตัว อายุ 70 วัน แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่1 ได้รับซีลิเนียมในปริมาณ 0.2 mg (0.2 ppm) เสริมด้วยไวตามิน อี 30 มิลลิกรัม กลุ่มที่ 2 ได้รับซีลิเนียม 0.5 มิลลิกรัม (0.5ppm) เสริมด้วยไวตามิน อี 60 มิลลิกรัม ในอาหารผสม 1 กิโลกรัม เริ่ม

ทดลองในสุกรอายุตั้งแต่ 70-180 วัน พบว่าซีลิเนียมปริมาณ 0.5 mg ช่วยเพิ่มคุณภาพน้ำเชื้อได้โดยมีส่วนช่วยทำให้ความเข้มข้นของน้ำเชื้อและจำนวนอสุจิมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นและมีเปอร์เซ็นต์อสุจิเคลื่อนไหวได้ตลอดจนจำนวนอสุจิที่มีรูปร่างปกติเพิ่มมากขึ้นด้วย

นอกจากนี้ Mahan (1998) รายงานว่าการเสริมซีลิเนียมปริมาณ 0.3 ppm ในอาหารสุกรจะช่วยเพิ่มคุณภาพของน้ำเชื้อได้ โดยช่วยเพิ่มจำนวนอสุจิรูปร่างปกติเท่ากับ 62% แต่ถ้าได้รับซีลิเนียมน้อยกว่าจะทำให้จำนวนอสุจิรูปร่างปกติน้อยกว่า 25% แต่ถ้าปริมาณมากกว่า 0.3 ppm จะให้ผลที่ไม่แตกต่างกันในทางสถิติและพบว่าการใช้ซีลิเนียมในรูปของสารอินทรีย์จะช่วยเพิ่มคุณภาพของน้ำเชื้อได้ดีกว่าการใช้ในรูปของสารอนินทรีย์เนื่องจากกระบวนการดูดซึมเพื่อนำไปใช้จะเกิดได้เร็วกว่าจึงสามารถดูดซึมเพื่อนำไปใช้ในการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ได้ดีกว่า (Mahan and Parrett,1996) แต่ถวัลย์ (2526) แนะนำให้ใช้ในรูปของโซเดียมซีลิไนท์ หรือ โซเดียมซีลิเนท ซึ่งอยู่ในรูปของสารอนินทรีย์ในปริมาณ 0.1 ppm เสริมในอาหารไก่หรืออาหารสุกรก็จะช่วยเพิ่มคุณภาพน้ำเชื้อได้ นอกจากนี้ Pherson (1998) ยังศึกษาพบว่าควรใช้ซีลิเนียมปริมาณ 0.2 ppm จะช่วยเพิ่มการเคลื่อนไหวของอสุจิได้อย่างมีนัยสำคัญ

ธาตุซีลิเนียมช่วยเพิ่มสมรรถนะทางการสืบพันธุ์และเพิ่มคุณภาพของน้ำเชื้อได้โดยบทบาทด้านสมรรถนะทางการสืบพันธุ์ (sex libido) ซีลิเนียมมีบทบาทในการช่วยเพิ่มฮอร์โมน testosterone หรือฮอร์โมนที่แสดงถึงความเป็นสุกรเพศผู้ ส่งผลให้ในการหลั่งน้ำเชื้อแต่ละครั้งจะมีปริมาณน้ำเชื้อและจำนวนของอสุจิเพิ่มมากขึ้น ทางด้านคุณภาพน้ำเชื้อ (semen quality) ซีลิเนียมมีบทบาทในการเพิ่มความแข็งแรงของตัวอสุจิทำให้เปอร์เซ็นต์อสุจิเคลื่อนไหวได้มีค่ามากขึ้น โดยซีลิเนียมเข้าไปมีส่วนช่วยเพิ่มความแข็งแรงบริเวณหางของอสุจิทำให้เคลื่อนไหวได้ดีขึ้นนอกจากนี้ซีลิเนียมยังช่วยเพิ่มจำนวน sertoli cell คือเซลล์ที่ทำหน้าที่ผลิตอาหารเลี้ยงอสุจิ ทำให้อสุจิที่ได้มีคุณภาพมากยิ่งขึ้นและจากการศึกษาพบว่าซีลิเนียมในรูปของสารอินทรีย์จะให้ผลต่อสมรรถนะทางการสืบพันธ์และคุณภาพน้ำเชื้อได้ดีกว่าซีลิเนียมที่อยู่ในรูปของสารอนินทรีย์ ทั้งนี้การเสริมซีลิเนียมนั้นต้องใช้ในปริมาณที่เหมาะสมโดยแนะนำว่าควรเติมในอาหารสุกรพ่อพันธุ์ที่ระดับ 0.2-0.5 ppm แต่ยังมีรายงานว่าใช้ซีลิเนียมเพียง 0.1 ppm ก็สามารถเพิ่มสมรรถนะทางการสืบพันธุ์และคุณภาพน้ำเชื้อได้ นอกจากนี้ยังพบว่าควรใช้ซีลิเนียมเสริมกับการใช้ไวตามิน อี จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพได้ดียิ่งขึ้นทั้งนี้ต้องคำนึงถึงปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อมโรคต่างๆ ตลอดจนการจัดการเพราะฉนั้นจะต้องมีการควบคุมปัจจัยเหล่านี้ควบคู่ไปกับการเสริมธาตุซีลิเนียม ก็จะส่งผลดีต่อคุณภาพน้ำเชื้อมากยิ่งขึ้น

ดังนั้นการทดลองนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาถึงระดับการเสริมซีลีเนียมในอาหารเลี้ยงยีสต์ที่ทำให้ยีสต์สามารถผลิตซีลีเนียมยีสต์ได้ปริมาณมากที่สุดเพื่อนำซีลีเนียมยีสต์ที่ได้มาผสมลงในอาหารเลี้ยงสุกรพ่อพันธุ์โดยเปรียบเทียบคุณภาพกับซีลีเนียมยีสต์ตามท้องตลาด จากนั้นจะศึกษาถึงอิทธิพลที่มีต่อปริมาณน้ำเชื้อ, ความเข้มข้นของน้ำเชื้อ, เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิและความผิดปกติของเยื่อหุ้มเซลล์ในตัวอสุจิ, องค์ประกอบของไขมันในตัวอสุจิ โดยเปรียบเทียบผลของน้ำเชื้อกับสุกรพ่อพันธุ์ที่กินอาหารผสมกับซีลีเนียมอนินทรีย์ ยีสต์ และซีลีเนียมยีสต์ที่มีขายตามท้องตลาด

1.3 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

2.1 คัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมและหาระดับความเข้มข้นของการผลิตซีลีเนียมยีสต์ ในถังหมักขนาดเล็ก

2.2 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของซีลีเนียมยีสต์ในระบบสืบพันธุ์ของสุกรพ่อพันธุ์เปรียบเทียบกับซีลีเนียมอนินทรีย์

1.4 สมมติฐานของงานวิจัย

การใช้อาหารที่ผสมด้วยซีลีเนียมอินทรีย์และซีลีเนียมอนินทรีย์ในสุกรพ่อพันธุ์จะมีผลต่อระบบสืบพันธุ์ของสุกรพ่อพันธุ์ซึ่งสามารถวัดได้จากปริมาณน้ำเชื้อที่มากขึ้น ความเข้มข้นของน้ำเชื้อสูงขึ้น เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิเพิ่มสูงขึ้น ความผิดปกติของเยื่อหุ้มเซลล์ในตัวอสุจิลดลงและองค์ประกอบไขมันในตัวอสุจิไม่ผิดปกติไปจากเดิม ซึ่งจะเป็นผลทำให้จำนวนลูกต่อคอกและอัตราการผสมติดดีขึ้น

1.5 ขอบเขตของโครงการวิจัย

7.1 ทำการศึกษาหาระดับความเข้มข้นของซีลีเนียมที่เหมาะสมในการผลิตซีลีเนียมยีสต์โดยใช้ยีสต์ *S. cerevisiae*

7.2 เพิ่มประสิทธิภาพและขยายกำลังการผลิตซีลีเนียมยีสต์ในถังหมัก

7.3 นำซีลีเนียมในรูปแบบของอนินทรีย์และซีลีเนียมยีสต์มาผสมในอาหารสุกรพ่อพันธุ์เพื่อทดสอบระบบสืบพันธุ์ในพ่อสุกร

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับและหน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

1.1 คาดว่าจะได้รับการเผยแพร่ในวารสารในหรือต่างประเทศไม่น้อยกว่า 1 ฉบับ (อยู่ระหว่างการจัดทำ)

1.2 เผยแพร่องค์ความรู้ให้แก่ภาคเกษตรกรรมที่ใช้ซีลีเนียมยีสต์ในการเพิ่มประสิทธิภาพของระบบสืบพันธุ์ของสุกรพ่อพันธุ์ เป็นต้น

1.7 การทบทวนวรรณกรรม (reviewed literature) / สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง

ผลของซีลิเนียมต่อสมรรถนะทางการสืบพันธุ์

Henson.et.al (1983) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการใช้ซีลีเนียมเสริมในอาหารสุกรพ่อพันธุ์โดยใช้ซีลีเนียมในระดับต่างกันได้แก่ 0.05 ppm , 0.15 ppm และ 0.25 ppm ตามลำดับ ให้สุกรกินในอัตรา 2.27 กิโลกรัม/ตัว/วัน จากนั้นวัดระดับฮอร์โมน testosterone ในเลือด พบว่า ซีลิเนียมช่วยเพิ่มระดับฮอร์โมน testosterone ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่สำคัญในกระบวนการผลิตอสุจิและแสดงพฤติกรรมก้าวร้าวและความต้องการทางเพศในสุกรพ่อพันธุ์ได้

ผลของซีลิเนียมต่อคุณภาพน้ำเชื้อ

ซีลีเนียมมีบทบาทในการเพิ่มการเจริญเติบโตของอสุจิโดยมีผลช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตบริเวณอสุจิส่วนหัวและหาง เพื่อช่วยในการเคลื่อนไหวของอสุจิ (Mahan ,1996) นอกจากนี้ซีลิเนียมยังช่วยเพิ่มจำนวน Sertoli cell ซึ่งเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่ในการผลิตอาหารเลี้ยงอสุจิที่ถูก ควบคุมด้วยฮอร์โมน FSH และLH (Marin-Guzman *et al.,* 2000) Kolodziej และ Jacyno (2004) ได้ทำการศึกษาผลของการใช้ซีลิเนียมเสริมในอาหารสุกรโดยได้ทำการทดลองโดยใช้สุกรพ่อพันธุ์จำนวน 40 ตัว อายุ 70 วัน แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่1 ได้รับซีลิเนียมในปริมาณ0.2 mg (0.2 ppm) เสริมด้วยไวตามิน อี 30 มิลลิกรัม กลุ่มที่ 2 ได้รับซีลิเนียม 0.5 มิลลิกรัม (0.5ppm) เสริมด้วยไวตามิน อี 60 มิลลิกรัม ในอาหารผสม 1 กิโลกรัม เริ่มทดลองในสุกรอายุตั้งแต่ 70-180 วัน พบว่าซีลิเนียมปริมาณ 0.5 mg ช่วยเพิ่มคุณภาพน้ำเชื้อได้โดยมีส่วนช่วยทำให้ความเข้มข้นของน้ำเชื้อและจำนวนอสุจิมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นและมีเปอร์เซ็นต์อสุจิเคลื่อนไหวได้ตลอดจนจำนวนอสุจิที่มีรูปร่างปกติเพิ่มมากขึ้นด้วย

นอกจากนี้ Mahan (1998) รายงานว่าการเสริมซีลิเนียมปริมาณ 0.3 ppm ในอาหารสุกรจะช่วยเพิ่มคุณภาพของน้ำเชื้อได้ โดยช่วยเพิ่มจำนวนอสุจิรูปร่างปกติเท่ากับ 62% แต่ถ้าได้รับซีลิเนียมน้อยกว่าจะทำให้จำนวนอสุจิรูปร่างปกติน้อยกว่า 25% แต่ถ้าปริมาณมากกว่า 0.3 ppm จะให้ผลที่ไม่แตกต่างกันในทางสถิติและพบว่าการใช้ซีลิเนียมในรูปของสารอินทรีย์จะช่วยเพิ่มคุณภาพของน้ำเชื้อได้ดีกว่าการใช้ในรูปของสารอนินทรีย์ เนื่องจากกระบวนการดูดซึมเพื่อนำไปใช้จะเกิดได้เร็วกว่าจึงสามารถดูดซึมเพื่อนำไปใช้ในการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ได้ดีกว่า (Mahan and Parrett,1996) แต่ถวัลย์ (2526) แนะนำให้ใช้ในรูปของโซเดียมซีลิไนท์ หรือ โซเดียมซีลิเนท ซึ่งอยู่ในรูปของสารอนินทรีย์ในปริมาณ 0.1 ppm เสริมในอาหารไก่หรืออาหารสุกรก็จะช่วยเพิ่มคุณภาพน้ำเชื้อได้ นอกจากนี้ Pherson (1998) ยังศึกษาพบว่าควรใช้ซีลิเนียมปริมาณ 0.2 ppm จะช่วยเพิ่มการเคลื่อนไหวของอสุจิได้อย่างมีนัยสำคัญ

ธาตุซีลิเนียมช่วยเพิ่มสมรรถนะทางการสืบพันธุ์และเพิ่มคุณภาพของน้ำเชื้อได้โดย บทบาทด้านสมรรถนะทางการสืบพันธุ์ (sex libido) ซีลิเนียมมีบทบาทในการช่วยเพิ่มฮอร์โมน testosterone หรือฮอร์โมนที่แสดงถึงความเป็นสุกรเพศผู้ ส่งผลให้ในการหลั่งน้ำเชื้อแต่ละครั้งจะมีปริมาณน้ำเชื้อและจำนวนของอสุจิเพิ่มมากขึ้น ทางด้านคุณภาพน้ำเชื้อ (semen quality) ซีลิเนียมมีบทบาทในการเพิ่มความแข็งแรงของตัวอสุจิทำให้เปอร์เซ็นต์อสุจิเคลื่อนไหวได้มีค่ามากขึ้น โดยซีลิเนียมเข้าไปมีส่วนช่วยเพิ่มความแข็งแรงบริเวณหางของอสุจิทำให้เคลื่อนไหวได้ดีขึ้น นอกจากนี้ซีลิเนียมยังช่วยเพิ่มจำนวน sertoli cell คือเซลล์ที่ทำหน้าที่ผลิตอาหารเลี้ยงอสุจิ ทำให้อสุจิที่ได้มีคุณภาพมากยิ่งขึ้นและจากการศึกษาพบว่าซีลิเนียมในรูปของสารอินทรีย์จะให้ผลต่อสมรรถนะทางการสืบพันธุ์และคุณภาพน้ำเชื้อได้ดีกว่าซีลิเนียมที่อยู่ในรูปของสารอนินทรีย์ ทั้งนี้การเสริมซีลิเนียมนั้นต้องใช้ในปริมาณที่เหมาะสมโดยแนะนำว่าควรเติมในอาหารสุกรพ่อพันธุ์ที่ระดับ 0.2-0.5 ppm แต่ยังมีรายงานว่าใช้ซีลิเนียมเพียง 0.1 ppm ก็สามารถเพิ่มสมรรถนะทางการสืบพันธุ์และคุณภาพน้ำเชื้อได้ นอกจากนี้ยังพบว่าควรใช้ซีลิเนียมเสริมกับการใช้ไวตามิน อี จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพได้ดียิ่งขึ้นทั้งนี้ต้องคำนึงถึงปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อม

โรคต่างๆ ตลอดจนการจัดการ เพราะฉะนั้นจะต้องมีการควบคุมปัจจัยเหล่านี้ควบคู่ไปกับการเสริมธาตุซีลิเนียม ก็จะส่งผลดีต่อคุณภาพน้ำเชื้อมากยิ่งขึ้น

ดังนั้นการทดลองนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาถึงระดับการเสริมซีลีเนียมในอาหารเลี้ยงยีสต์ที่ทำให้ยีสต์สามารถผลิตซีลีเนียมยีสต์ได้ปริมาณมากที่สุดเพื่อนำซีลีเนียมยีสต์ที่ได้มาผสมลงในอาหารเลี้ยงสุกรพ่อพันธุ์ โดยเปรียบเทียบคุณภาพกับซีลีเนียมยีสต์ตามท้องตลาด จากนั้นจะศึกษาถึงอิทธิพลที่มีต่อปริมาณน้ำเชื้อ, ความเข้มข้นของน้ำเชื้อ, เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ, ความผิดปกติของเยื่อหุ้มเซลล์ในตัวอสุจิ, องค์ประกอบของไขมันในตัวอสุจิ โดยเปรียบเทียบผลของน้ำเชื้อกับสุกรพ่อพันธุ์ที่กินอาหารผสมกับซีลีเนียมอนินทรีย์ ยีสต์ และซีลีเนียมยีสต์ที่มีขายตามท้องตลาด

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 2
วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

2.1 คัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์และเตรียมเชื้อ

นำยีสต์ 14 สายพันธุ์ (Cosdee Blance, *S. bayanus* No. 67J, CY-3079, DV-10, Pasture Red, EC-1118, K1-V1116, D254, *S. cerevisiae* No. 34, NT 50, Beer Kit, 71B-1112, Pasture Champagne, ICV-D47) ในห้องปฏิบัติการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร YM agar โดนบ่มที่อุณหภูมิ 30°ซ เลือกโคโลนีของยีสต์ที่ได้มาทดสอบประสิทธิภาพการผลิตซีลีเนียมในเซลล์ยีสต์โดยเลี้ยงยีสต์ใน YM broth (Yeast extract 3 กรัม, malt extract 3 กรัม, meat peptone 5 กรัม, Glucose 10 กรัม ในน้ำ 1 ลิตร) ที่มีซีลีเนียมความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เขย่า 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30°ซ นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นปั่นเหวี่ยงแยกเอาเซลล์ยีสต์ออกจากอาหารเหลวด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็ว 3000 รอบต่อนาที จากนั้นนำเซลล์ยีสต์และอาหารเหลวมาวิเคราะห์หาปริมาณซีลีเนียม ทำให้เซลล์ยีสต์แตกด้วยการทำลายผนังเซลล์ยีสต์ด้วยการเติม 30% HCl + 30% H_2O_2 อุณหภูมิ 90°ซ นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายทั้งหมดมาวัดปริมาณซีลีเนียมด้วยเครื่อง ICP-MS 7500ce เปรียบเทียบกับสารละลายซีลีเนียมมาตรฐาน ทำการคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ที่สามารถตรึงซีลีเนียมต่อกรัมเซลล์และปริมาณซีลีเนียมต่อเซลล์ ยีสต์ได้สูงที่สุด

2.2 ความเข้มข้นของซีลีเนียมที่เหมาะสมต่อการตรึงซีลีเนียมในยีสต์

ทำการทดลองต่อโดย ทำการเลี้ยงเชื้อยีสต์ที่คัดเลือกได้มาทำซ้ำในอาหาร YM ที่มีซีลีเนียมความเข้มข้น 10, 20, 30, 40, 50, 60 ppm เขย่า 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30°ซ นาน 24ชั่วโมง วัดการเจริญด้วยการวัดการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร และวัดปริมาณซีลีเนียมในเซลล์ยีสต์

2.3 ทำการหมักในถังหมัก (fermenter)

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ YM ปริมาตร 3.5 ลิตร เติมลงในถังหมักขนาด 5 ลิตร จากนั้นเติมหัวเชื้อยีสต์ที่เตรียมโดยการเลี้ยงยีสต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว YM 500 มิลลิลิตร โดยทำการเติมโซเดียมซีลีไนท์ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในอาหาร YM และใช้การกวนความเร็ว 200 rpm และควบคุมอุณหภูมิเป็น 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุกๆ 2 ชั่วโมงตลอดระยะเวลาการหมักเพื่อวิเคราะห์หาการเจริญของยีสต์ การตรึงซีลีเนียมไว้ภายในเซลล์

2.4 การวิเคราะห์หาปริมาณของซีลีเนียมที่ตรึงอยู่ในเซลล์ยีสต์

ทำการปั่นเหวี่ยงเพื่อเก็บเซลล์ยีสต์ที่ความเร็ว 4,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นล้างเซลล์ 2 ครั้ง แล้วจึงทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ในขณะเดียวกันก็ทำการอบเซลล์ยีสต์ด้วยอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำเซลล์ยีสต์ที่ได้ทำการย่อยด้วย HCl (30%) ปริมาณ 10 ไมโครลิตร และ H_2O_2 (30%) ปริมาณ 50 ไมโครลิตร โดยควบคุมอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำการกรองตัวอย่างด้วยเมมเบรนไนลอนขนาด 0.25 ไมโครเมตร จากนั้นใช้ Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณซีลีเนียมในเซลล์ยีสต์และนับจำนวนเซลล์ยีสต์ด้วย Haematocytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

Table 3.1 Operating condition for total Se determination using ICP-MS

Parameter	ICP-MS conditions
Reflected power	1550 W
Sampling depth	8 mm
Carrier gas (Argon)	0.85 L/min
Makeup gas (Argon)	0.34 L/min
Nebulizer pump	0.08 rps
Temperature	2 ºC

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 3
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการดำเนินงานวิจัย การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมและหาระดับความเข้มข้นของการผลิตซีลีเนียมยีสต์ ในถังหมักขนาดเล็ก

การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์

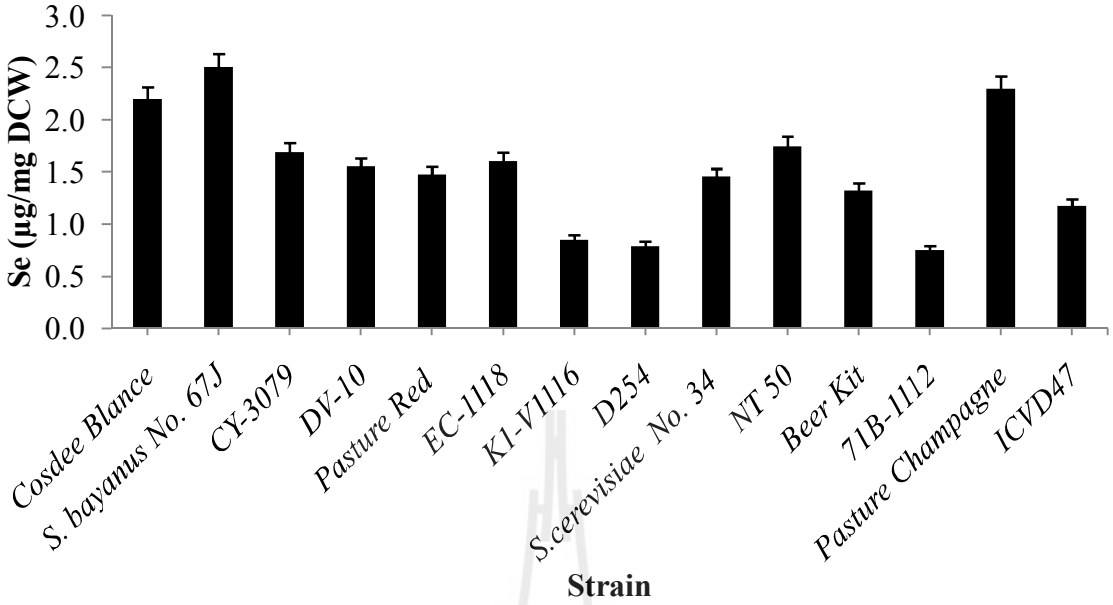
นำยีสต์ 14 สายพันธุ์ ในห้องปฏิบัติการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร YM agar โดยบ่มที่อุณหภูมิ 30°ซ เลือกโคโลนีของยีสต์ที่ได้มาทดสอบประสิทธิภาพการผลิตซีลีเนียมในเซลล์ยีสต์ โดยเลี้ยงยีสต์ใน YM broth (Yeast extract 3 กรัม, malt extract 3 กรัม, meat peptone 5 กรัม, Glucose 10 กรัม ในน้ำ 1 ลิตร) ที่มีซีลีเนียมความเข้มข้น 10 มิลลิกรมต่อลิตร เขย่า 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30°ซ นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นปั่นเหวี่ยงแยกเอาเซลล์ยีสต์ออกจากอาหารเหลวด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็ว 3000 รอบต่อนาที จากนั้นนำเซลล์ยีสต์และอาหารเหลวมาวิเคราะห์หาปริมาณซีลีเนียม ทำให้เซลล์ยีสต์แตกด้วยการทำลายผนังเซลล์ยีสต์ด้วยการเติม 30% HCl + 30% H_2O_2 อุณหภูมิ 90°ซ นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลายทั้งหมดมาวัดปริมาณซีลีเนียมด้วยเครื่อง ICP-MS 7500ce เปรียบเทียบกับสารละลายซีลีเนียมมาตรฐาน ทำการคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ที่สามารถตรึงซีลีเนียมต่อกรัมเซลล์และปริมาณซีลีเนียมต่อ 1 เซลล์ ยีสต์ได้สูงพบว่า ยีสต์สายพันธุ์ *Sacchromyces bayanus* สามารถตรึงซีลีเนียมต่อกรัมเซลล์และปริมาณซีลีเนียมต่อ 1 เซลล์ ยีสต์ได้สูงที่สุด

การหาระดับความเข้มข้นซีลีเนียมของการผลิตซีลีเนียมยีสต์

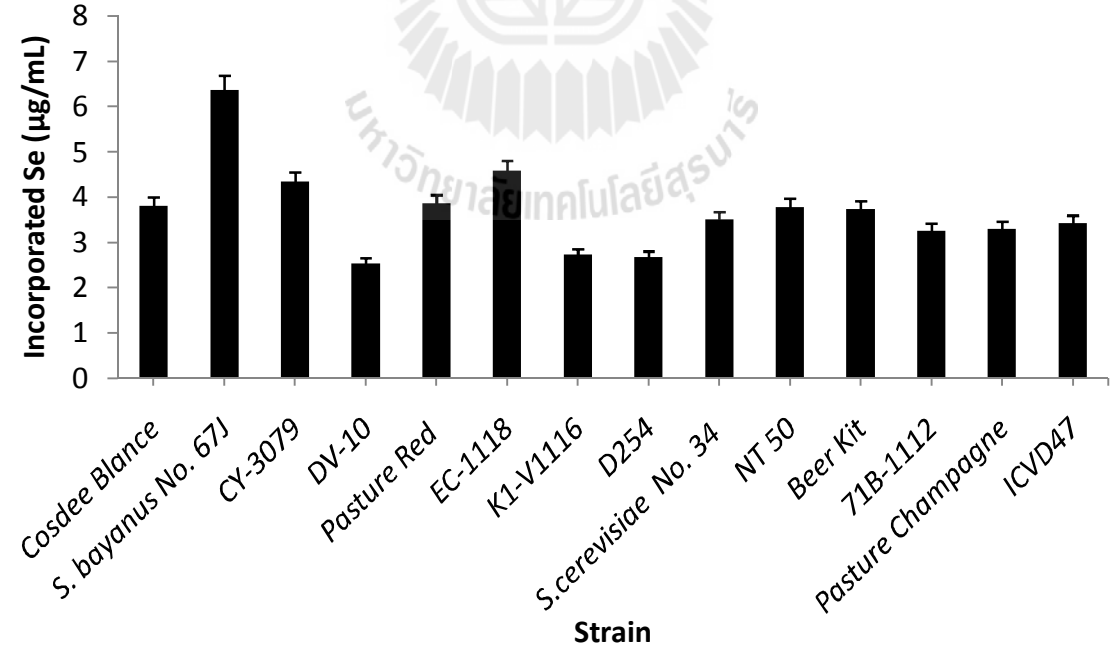
ทำการทดลองต่อโดย ทำการเลี้ยงเชื้อยีสต์ที่คัดเลือกได้มาทำซ้ำในอาหาร YM ที่มีซีลีเนียมความเข้มข้น 10, 20, 30, 40, 50, 60 ppm เขย่า 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30°ซ นาน 24ชั่วโมง วัดการเจริญด้วยการวัดการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร และวัดปริมาณซีลีเนียมในเซลล์ยีสต์พบว่า *Sacchromyces bayanus* ที่ความเข้มข้นของซีลีเนียมระดับ 20 ppm สามารถตรึงซีลีเนียมได้มากที่สุด

การผลิตซีลีเนียมยีสต์โดยถังหมักขนาดเล็ก

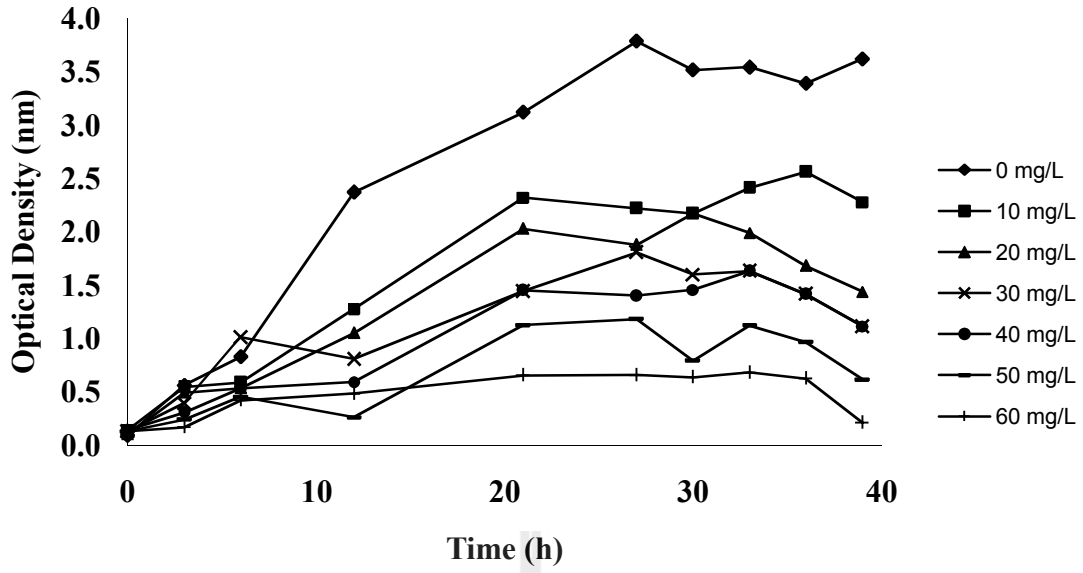
การทดลองกลุ่มที่หนึ่งเป็นการผลิตซีลีเนียมยีสต์โดยการคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์จำนวน 14 สายพันธุ์โดยทำการเลี้ยงในอาหารที่มีการเสริมด้วยโซเดียมซีลีไนด์ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า *Saccharomyces bayanus* สามารถตรึงซีลีเนียมไว้ภายในเซลล์ได้มากที่สุดคือ 6.63 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีปริมาณซีลีเนียมต่อน้ำหนักแห้งสูงสุดที่ 2.51 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม และเมื่อเลี้ยงในถังหมักขนาด 5 ลิตรพบว่าการเลี้ยง *S. bayanus* เป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีปริมาณซีลีเนียมต่อน้ำาหนักแห้งสูงที่สุดที่ 6.43 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม และสามารถตรึงซีลีเนียมไว้ภายในเซลล์ได้มากที่สุดคือ 6.91 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



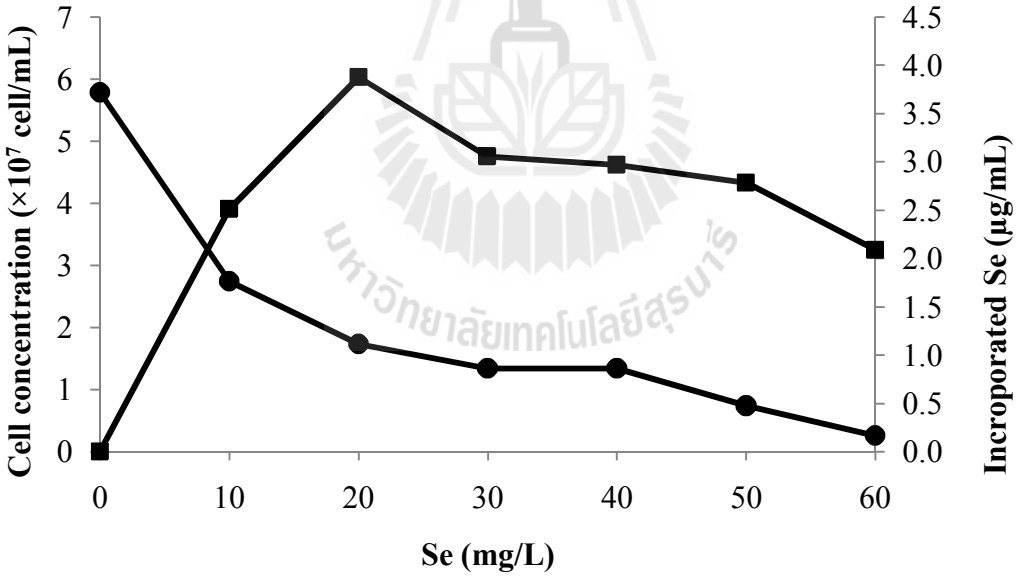
รูปที่ 3.1 การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์จำนวน 14 สายพันธุ์ โดยทำการเลี้ยงในอาหารที่มีการเสริมด้วยโซเดียมซีลีไนด์ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า *Saccharomyces bayanus* มีปริมาณซีลีเนียมต่อน้ำหนักแห้งสูงสุดที่ 2.51 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม



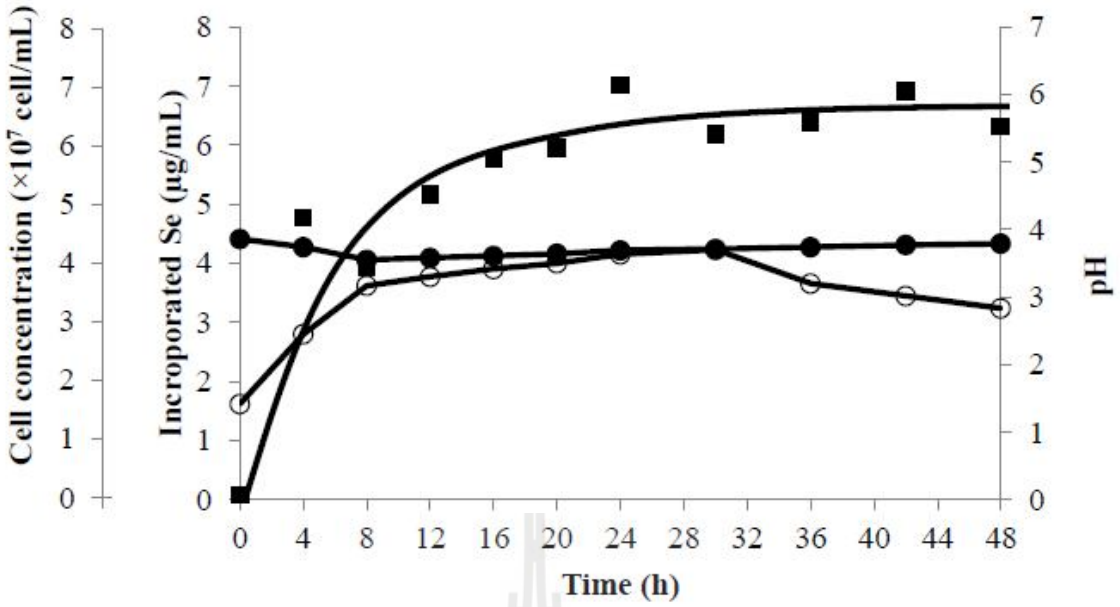
รูปที่ 3.2 การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์จำนวน 14 สายพันธุ์ โดยทำการเลี้ยงในอาหารที่มีการเสริมด้วยโซเดียมซีลีไนด์ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า *Saccharomyces bayanus* สามารถตรึงซีลีเนียมไว้ภายในเซลล์ได้มากที่สุดคือ 6.63 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



รูปที่ 3.3 การเจริญของยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces bayanus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของซีลีเนียมจาก 0 ถึง 60 mg/L; 0 mg/L (◆), 10 mg/L (■), 20 mg/L (▲), 30 mg/L (×), 40 mg/L (●), 50 mg/L(-), 60 mg/L (+).



รูปที่ 3.4 ผลกระทบจากความเข้มข้นของซีลีเนียมต่อการตรึงซีลีเนียมไว้ภายในเซลล์ของยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces bayanus* ที่เลี้ยงในถังหมักขนาด 5 ลิตร เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์ (●), การตรึงซีลีเนียมไว้ภายในเซลล์ยีสต์ (■).



รูปที่ 3.5 ผลกระทบจากซีลีเนียมความเข้มข้นที่ 20 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อการตรึงซีลีเนียมไว้ภายในเซลล์ของยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces bayanus* ที่เลี้ยงในถังหมักขนาด 5 ลิตร เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จำนวนเซลล์ยีสต์ทั้งหมด (●), การตรึงซีลีเนียมไว้ภายในเซลล์ยีสต์ (■), ความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ (○)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 4
วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

2.5 สัตว์ทดลอง

คัดเลือกลูกสุกรอายุ 60 วันจากฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี เพื่อใช้เป็นสุกรพ่อพันธุ์เลี้ยงจนได้อายุ 240 วัน แล้วคัดเลือกอีกครั้งให้ได้จำนวน 30 ตัว พ่อสุกรจะถูกแบ่งออกเป็นกลุ่ม เพื่อทำการทดสอบผลของการเสริมยีสต์ ซีลีเนียมอนินทรีย์และซีลีเนียมอินทรีย์ในอาหารต่อคุณภาพตัวอสุจิของสุกรพ่อพันธุ์

2.6 การให้อาหารและน้ำ

ให้อาหารแก่พ่อสุกร 2 เวลาคือ 08.30 น. และ 15.00 น. โดยให้อาหาร 3 กิโลกรัมต่อวัน มีที่ให้น้ำอัตโนมัติให้กินตลอดเวลา

2.7 ทดสอบซีลีเนียมอินทรีย์ในสุกรพ่อพันธุ์

ทำการทดสอบผลของการเสริมยีสต์ ซีลีเนียมอนินทรีย์และซีลีเนียมอินทรีย์ ตามท้องตลาดและลงในอาหารทางการค้าต่อคุณภาพของตัวอสุจิ โดยทำการเสริมยีสต์ลงในอาหารสุกรพ่อพันธุ์ในระดับ 0.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ผสมซีลีเนียมอนินทรีย์ในอาหารสุกรพ่อพันธุ์ในระดับ 0.15, 0.45, 0.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารและเสริมซีลีเนียมอินทรีย์ลงในอาหารทางการค้าที่สุกรพ่อพันธุ์กินในระดับ 0.15, 0.45, 0.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารตามลำดับ จากนั้นนำอาหารไปให้สุกรกินทันที ทำการรีดน้ำเชื้อเพื่อทดสอบปริมาณการหลั่งน้ำเชื้อต่อครั้ง เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ เปอร์เซ็นต์ความผิดปกติของตัวอสุจิ เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของตัวอสุจิ ปริมาณน้ำเชื้อของสุกรพ่อพันธุ์ ความเข้มข้นของตัวอสุจิ จำนวนตัวอสุจิทั้งหมด อุณหภูมิและความเป็นกรด-ด่างของน้ำเชื้อ โดยทำการเปรียบเทียบผลของน้ำเชื้อกับน้ำเชื้อของสุกรพ่อพันธุ์ที่กินอาหารสูตรที่ไม่มีการผสมของ ซีลีเนียมอนินทรีย์ ซีลีเนียมอินทรีย์ และยีสต์ตามท้องตลาดเป็นระยะเวลา 28 วัน และเนื่องจากกระบวนการสร้างตัวอสุจิ (ตั้งแต่ สเปอร์มาโตโกเนียม ถึงเป็นตัวอสุจิ) ใช้เวลา 34.4 วัน โดยแบ่งออกเป็นระยะต่างๆ คือ สเปอร์โตไซท์ระยะแรก สเปอร์มาโตไซท์ระยะที่สอง สเปอร์มาติด และตัวอสุจิใช้เวลาในแต่ละระยะเท่ากับ 12.3, 0.4, 7.8 และ 6.2 วัน ตามลำดับ (Bearden and Fuquay, 1992) ทางคณะผู้วิจัยจึงทำการเก็บตัวอย่างน้ำเชื้อสุกรพ่อพันธุ์ตั้งแต่ก่อนทำการเสริมเป็นเวลา 7 วันและหลังการเสริมอีก 28 วัน เพื่อศึกษาผลของซีลีเนียม อนินทรีย์ ซีลีเนียมอินทรีย์ และยีสต์ต่อคุณภาพของตัวอสุจิที่มีการเจริญเติบโตเต็มที่ (mature sperm) และตัวอสุจิที่กำลังพัฒนาตั้งแต่ระยะสเปอร์มาโตโกเนียมซึ่งเกิดจากกระบวนการสร้างตัวอสุจิในแต่ละระยะของสุกรพ่อพันธุ์

2.8 การวิเคราะห์องค์ประกอบในอาหารสุกรพ่อพันธุ์ด้วยวิธี Proximate

2.8.1 การวิเคราะห์ความชื้น/วัตถุแห้ง

นำถ้วยอลูมิเนียมไปอบจนได้น้ำหนักคงที่ ชั่งอาหารสุกรใส่ถ้วยอลูมิเนียม ประมาณ 2 - 3 กรัม นำถ้วยอลูมิเนียมที่บรรจุอาหารสุกรไปอบในตู้ที่มีอุณหภูมิ 100 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 - 4 ชั่วโมง จากนั้นนำถ้วยอลูมิเนียมออกจากตู้อบ แล้วนำไปเก็บไว้ในโถอบแห้ง ทิ้งให้เย็นแล้วนำไปชั่งจดบันทึกน้ำหนักไว้

การคำนวณ $\%\ \text{ความชื้น} = \frac{(A - B) \times 100}{C}$

เมื่อ A = น้ำหนักถ้วยอลูมิเนียมรวมตัวอย่างก่อนอบแห้ง

B = น้ำหนักถ้วยอลูมิเนียมรวมตัวอย่างหลังอบแห้งจนได้น้ำหนักที่แน่นอน

C = น้ำหนักตัวอย่างอาหาร

การคำนวณ $\%\ \text{สิ่งแห้ง (dry matter)} = 100 - (\%\ \text{ความชื้น})$

2.8.2 การวิเคราะห์หาเถ้า (Ash)

นำถ้วยกระเบื้องที่สะอาดและแห้งไปเผาในเตาเผาที่มีอุณหภูมิ 550 – 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำถ้วยกระเบื้องออกจากเตาเผาตั้งทิ้งไว้บนแผ่นกระเบื้องเคลือบสักครู่ แล้วนำไปตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในโถอบแห้งจากนั้นนำไปชั่งน้ำหนัก ชั่งอาหารสุกรใส่ถ้วยกระเบื้องประมาณ 2-3 กรัม ชั่งน้ำหนักแล้วจดบันทึกไว้ นำถ้วยกระเบื้องพร้อมตัวอย่าง ไปเผาบนแผ่นความร้อนในตู้ดูดควัน จนกระทั่งหมดควัน นำถ้วยกระเบื้องพร้อมตัวอย่างไปเผาต่อในเตาเผาที่มีอุณหภูมิ 550 – 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 ชั่งโมง จนได้เถ้าสีขาวหรือเกือบสีขาว แล้วนำถ้วยกระเบื้องออกมาทิ้งให้เย็นในโถอบแห้งแล้วชั่งน้ำหนักจดบันทึกไว้

การคำนวณ $\%\ \text{เถ้าทั้งหมด} = \frac{(A - B) \times 100}{C}$

เมื่อ A = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องรวมตัวอย่างหลังเผา

B = น้ำหนักถ้วยกระเบื้อง

C = น้ำหนักตัวอย่างอาหาร

2.8.3 การวิเคราะห์หาโปรตีน (Crude Protein, CP)

ชั่งอาหารสุกรบนกระดาษชั่งสาร ประมาณ 1 - 2 กรัม แล้วนำไปใส่ใน Kjeldahl flask เติมสารเร่งปฏิกิริยา 10 กรัม และ H_2SO_4 เข้มข้น 15 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปต้มบนเครื่องย่อย โดยนำ Kjeldahl flask ไปต่อเข้ากับเครื่องย่อย ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 420 องศาเซลเซียส ย่อยทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง หรือทำการย่อยจนได้สารละลายใส หลังจากนั้นนำ flask ไปตั้งทิ้งไว้ให้เย็น นำ flask ไปต่อเข้ากับกับเครื่องกลั่น โดยจะมีการเติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร และเติม NaOH 32% จำนวน 80 มิลลิลิตร เติม Boric acid 4% จำนวน 25 มิลลิลิตร ใน Erlenmeyer flask หยด indicator 3 หยด แล้วนำไปต่อเข้ากับชุดเครื่องกลั่นทำการกลั่นจนสารละลายใน Erlenmeyer flask มีปริมาตร 200 มิลลิลิตร Boric acid จะเปลี่ยนจากสีม่วงแดงเป็นสีเขียว นำสารละลายใน Erlenmeyer flask ไปไตตรท กับ Std. HCl 0.1 N จนกระทั่งสีเปลี่ยนเป็นสีม่วงแดง จดบันทึกปริมาตรกรดที่ใช้ในการไต เตรท ทำแบลงค์ (Blank) ด้วยวิธีเดียวกันแต่ไม่มีตัวอย่าง

การคำนวณ $$\% \text{ Nitrogen} = \frac{(A - B) \times 0.014 \times N}{C} \times 100$$

เมื่อ A = ปริมาตร Std. HCl ที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่าง (sample)

B = ปริมาตร Std. HCl ที่ใช้ในการไตเตรทแบลงค์ (blank)

C = น้ำหนักตัวอย่างเนื้อปลาที่ใช้ในการวิเคราะห์

N = ความเข้มข้นของ Std. HCl ที่ทราบค่ามาตรฐานแน่นอนประมาณ 0.1 - 0.2 N

การคำนวณ % Crude Protien = % Nitrogen x Empirical factor

โดยทั่วไป Empirical factor = 6.25

2.8.4 การวิเคราะห์หาไขมันด้วยวิธีการสกัด Hexane (Hexane Extract)

นำหลอดแก้วล้างสะอาดไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนแห้งนำไปตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในโถอบแห้ง แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก จดบันทึกไว้ ทำการใส่ Hexane 15 ml. และ Methanol 20 ml. ลงในตัวอย่างอาหารสุกรจำนวน 5 กรัม ปั่นรวมกันด้วยเครื่อง Ultrasonic เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติม 0.1ml.M EDTA 5 ml. ปั่นต่อเป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้ Hexane และ Methanol แยกชั้นกัน เทส่วนที่เป็นของเหลวลงใน tube 50 ml. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 5,000 rpm 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จะเกิดการแยกชั้นของไขมันที่ละลายใน hexane ทำการดูดของเหลวที่อยู่ชั้นบน 5 ml. ใส่ในหลอดแก้วที่ได้ทำการอบแห้งและจดบันทึกน้ำหนักไว้แล้ว นำหลอดแก้วนั้นไป dry แห้งที่ 100 องศาเซลเซียส ในตู้ดูดควันเพื่อละเหย hexane ออกให้หมด แล้วนำไปอบต่อที่ตู้อบ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 - 4 ชั่วโมง อบแห้งในโถดูดความชื้น ทำการจดบันทึกน้ำหนัก

การคำนวณ $\%\ \text{ไขมัน} = \frac{(B-A)}{C} \times 100$

เมื่อ A = น้ำหนักหลอดแก้วที่อบจนแห้งก่อนการสกัด

B = น้ำหนักหลอดแก้ว + น้ำหนักไขมันจากตัวอย่างเนื้อปลาหลังสกัดไขมัน

C = น้ำหนักตัวอย่างเนื้อปลาที่ใช้ในการสกัด

2.9 การรีดน้ำเชื้อ

ทำการรีดน้ำเชื้อโดยรีดใช้มือบีบนวดปลายอวัยวะสืบพันธุ์ของเพศผู้ (Glove hand-method) ทำการรีดเก็บทุกส่วนของน้ำเชื้อ (total semen) โดยมีผ้ากรองแยกเม็ดสาคูออก ความถี่ในการรีดน้ำเชื้อจะทำการรีด 1 ครั้งต่อสัปดาห์ นำน้ำเชื้อที่รีดได้มาทำการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อดังนี้

1. ปริมาตร (volume)
2. สี (color)
3. ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)
4. อสุจิที่เคลื่อนไหวได้หรือมีชีวิต (motility)
5. ความเข้มข้นของน้ำเชื้อ (concentration)
6. ความผิดปกติของตัวอสุจิ (abnormality)
7. ตัวเป็นและตัวตายของอสุจิ (live-death sperm)
8. อุณหภูมิของน้ำเชื้อ (temperature)

น้ำเชื้อของพ่อสุกรที่หลั่งออกมาครั้งหนึ่งๆนั้นจะประกอบไปด้วย 3 คือ ส่วนที่เป็นเม็ดสาคู (gelatinous) ส่วนที่เป็นน้ำใสๆ (pre-sperm fraction) และส่วนที่เป็นน้ำขาวขุ่น (sperm-rich fraction) โดยจะเก็บเฉพาะส่วนที่เป็นสีขาวขุ่นส่วนของเม็ดสาคูซึ่งออกมาตอนแรกสุดจะใช้ผ้าขาวบางกรองออกเพราะเป็นส่วนที่มีแบคทีเรียปะปนมามาก (ศรีสุวรรณ, 2542) จากนั้นนำน้ำเชื้อที่ได้มาตวงด้วยกระบอกตวงขนาด 500 มิลลิลิตร ทำการตรวจสอบสี (color) ของน้ำเชื้อซึ่งจะแบ่งระดับคะแนนสีของน้ำเชื้อออกเป็น 4 ระดับ สำหรับความเป็นกรดเป็นด่างใช้เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่างวัด การเคลื่อนไหวของตัวอสุจิที่มีชีวิต ความแข็งแรงในการเคลื่อนไหวของตัวอสุจิ (sperm motility) จะถูกแบ่งออกเป็น 5 ระดับของการเคลื่อนที่ จากนั้นใช้เครื่อง SpermaCue photometer บริษัท minitub ประเทศเยอรมันนีตรวจวัดความเข้มข้นของตัวอสุจิ (sperm concentration) จากนั้นทำการย้อมตัวอสุจิด้วยวิธี eosin-nigrosin staining สำหรับการตรวจความผิดปกติของรูปร่างตัวอสุจิ และตรวจจำนวนตัวอสุจิที่มีชีวิตซึ่งไม่ติดสีและตัวอสุจิที่ตายซึ่งติดสีแดงของ eosin ส่วน nigrosin เป็นสีพื้นเข้ม

2.10 การวิเคราะห์ค่าเคมีในเลือดสุกรพ่อพันธุ์

ทำการเจาะตัวอย่างเลือดสุกรที่ 0 และ 28 วัน บริเวณคอที่เส้นเลือดดำเก็บบรรจุในหลอดที่มี EDTA เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือดและใช้ HMX Hematology Analyzer (Coulter, Canada) ในการวิเคราะห์หา Red blood cells (RBC), hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), white blood cell (WBC), lymphocyte, monocyte, eosinophil และ basophil จากนั้นใช้ Automatic clinical chemistry analyzer (Biosystems A15, Canada) เพื่อวิเคราะห์หา cholesterol, triglyceride, high density lipoprotein (HDL), low density lipoprotein (LDL), total protein, albumin, total bilirubin, direct bililubin, aspartate aminotransferase (SGOT), alanine aminotransferase (SGPT), blood urea nitrogen (BUN) และ creatinine

2.11 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

ความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลองวิเคราะห์หาความแปรปรวน (Analysis of variances, ANOVA) โดยวิเคราะหาค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มด้วยวิธี Duncan's new multiple rang test ความเชื่อมั่น 95% โดยโปรแกรม SPSS เวอร์ชั่น 13

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 5
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 ศึกษารูปร่างและความผิดปกติของอสุจิโดยการย้อมตัวอสุจิด้วยวิธี eosin-nigrosin staining

พ่อสุกรบางตัวที่มีลักษณะภายนอกดีและให้ปริมาณน้ำเชื้อมาก แต่บางทีผสมแล้วไม่ติดทั้งนี้อาจเนื่องจากว่ามีตัวอสุจิที่ผิดปกติอยู่เป็นจำนวนมาก โดยปกติแล้วจะพบความผิดปกติประมาณร้อยล่ะ 20 สำหรับน้ำเชื้อสดความผิดปกติของตัวอสุจิ อาจเนื่องเนื่องมาจากความร้อนหรือความเย็น อาหารหรือความไม่สมดุลของฮอล์โมน ซึ่งจะไปมีผลกระทบต่อขบวนการสร้างตัวอสุจิ ตัวอสุจิที่ผิดปกติจะไม่สามารถเคลื่อนที่แบบพุ่งไปข้างหน้า (progressive motility) ดังนั้นหากน้ำเชื้อที่ได้มีเปอร์เซ็นต์ของตัวอสุจิที่ผิดปกติสูง จะทำให้เปอร์เซ็นต์ของตัวอสุจิที่เคลื่อนไหวแบบพุ่งไปข้างหน้าลดลง

Eeardem และ Fuquay (1980) รายงานไว้ว่าตัวอสุจิจะมีความยาวทั้งหมดโดยเฉลี่ยประมาณ 60-70 ไมครอน ส่วนหัวยาวประมาณ 8-10 ไมครอน นอกนั้นจะเป็นส่วนหาง ส่วนหัวมีความกว้างประมาณ 4 ไมครอนและหนา 1 ไมครอน ตัวอสุจิที่ปกติจะประกอบไปด้วยส่วนหัวและส่วนหางแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือส่วนมิดพีซ (midpiece) เมนพีซ (mainpiece) และเอนพีซ (endpiece) ดังแสดงในภาพที่ 5.1 ภายในส่วนหัวประกอบไปด้วยนิวเคลียสและอะโครโซม ซึ่งจะครอบคลุมส่วนบนของนิวเคลียสของตัวอสุจิ ในอะโครโซมมีน้ำย่อยซึ่งจำเป็นสำหรับตัวอสุจิ ที่จะใช้เจาะเข้าไปในชั้นโซน่า เพลลูซิดา ของไข่ได้ในระหว่างปฏิสนธิ ถ้าหากอะโครโซมมีรูปร่างผิดปกติถูกทำลายหรือสูญหายไปทำให้ตัวอสุจิไม่สามารถปฏิสนธิได้

ส่วนของหางที่เรียกว่ามิดพีซ (midpiece) จะมีความหนามากกว่าส่วนหางบริเวณอื่นๆ ซึ่งจะยาวประมาณ 8-10 ไมครอน ที่ส่วนมิดพีซจะมีไมโตคอนเดรียอยู่ ไมโตคอนเดรียจะมีน้ำย่อยซึ่งจะเปลี่ยนน้ำตาลฟรุกโตสและสารอื่นที่ให้พลังงานเพื่อให้ตัวอสุจิสามารถนำไปใช้ได้ ส่วนเมนพีซ (endpiece) ซึ่งจะยาวประมาณ 40-50 ไมครอนและเอนพีซ ยาวประมาณ 3 ไมครอน หางส่วนท้ายคือ เอนพีช ส่วนหางทั้งหมดจะมีแอกเซียลฟิลาเมนท์ ซึ่งทอดยาวจากด้านที่หางติดกับส่วนหัวมาจนถึงปลายหางของตัวอสุจิ เกิดการเคลื่อนไหวทำให้ตัวอสุจิพุ่งไปข้างหน้าได้

ตัวอสุจิที่ผิดปกติสามารถแบ่งความผิดปกติได้เป็น 3 อย่างคือ

1. ส่วนหัวผิดปกติ (abnormal heads) เช่นหัวใหญ่ผิดปกติ หัวใหญ่ผิดปกติ หัวเล็กผิดปกติ หัวแหลมและมี 2 หัว
2. ส่วนหางผิดปกติ (abnormal tails) หางหัก หางงอและมี 2 หาง
3. มีหยดน้ำที่ส่วนหาง (cytoplasmic droplets) หยดน้ำที่เกิดขึ้นบนส่วนหางของตัวอสุจิจะเกิดขึ้นในระหว่างการสร้างตัวอสุจิ หยดน้ำนี้จะถูกสลัดออกเมื่อตัวอสุจิเคลื่อนตัวมาอยู่ที่บริเวณท่อเก็บน้ำเชื้อข้างลูกอัณฑะ (epididymis) ถ้าหากว่าหยดน้ำนี้ไม่ถูกสลัดออกไปจากหาง ตัวอสุจิที่ถูกหลั่งออกมาจะมีหยดน้ำติดที่ส่วนหางซึ่งเป็นตัวอสุจิที่ผิดปกติและถ้า

น้ำเชื้อมีตัวอสุจิที่มีหยดน้ำอยู่มากจะทำให้ความสมบรูณ์พันธุ์ต่ำลง เนื่องจากตัวอสุจิที่มีหยดน้ำอยู่ที่ส่วนหางจะไม่สามารถใช้ไพรูเวท (pyruvate) ได้ เวลาเข้าไปอยู่ในระบบสืบพันธุ์ของเพศเมียจะมีชีวิตอยู่ได้แค่ประมาณ 4 ชั่งโมงก็จะตาย (ศรีสุวรรณ, 2542)

รูปที่ 5.1 ตัวอสุจิสุกร ตัวอสุจิที่ปกติ (a) ส่วนหัวของตัวอสุจิเล็กกว่าปกติ (b) บริเวณส่วนมิดพิชของหางจะมีหยดน้ำอยู่ (c) หางงอและบริเวณส่วนเมนพิชของหางจะมีหยดน้ำอยู่ (d)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

5.2 ผลของซีลีเนียมในรูปแบบอนินทรีย์ (Na_2O_3Se) และอินทรีย์ (Se-yeast) ต่อคุณภาพตัวอสุจิ

ความผิดปกติของตัวอสุจิ

เปอร์เซ็นต์ความผิดปกติของตัวอสุจิ แสดงในรูป 5.2 อสุจิที่ได้จากพ่อพันธุ์ที่ได้รับการเสริมยีสต์ อนินทรีย์ (Na_2O_3Se) และ ซีลีเนียมอินทรีย์ (Se-yeast) มีความผิดปกติลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับสุกรพ่อพันธุ์ที่ไม่ได้รับการเสริมและในสูตรอาหารที่ 7 เมื่อทำการเสริม Se-yeast ที่ระดับ 0.45 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของอาหารพบว่าหลังจากทำการเสริมครบ 7, 14, 21 และ 28 วันตามลำดับ เปอร์เซ็นต์ความผิดปกติของตัวอสุจิลดลงจากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติของอสุจิของสุกรพ่อพันธุ์ก่อนทำการเสริม จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเสริม Na_2O_3Se และSe-yeast ลงในอาหารสุกรพ่อพันธุ์มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ความผิดปกติของตัวอสุจิของสุกรพ่อพันธุ์ลดลงผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการทดลองของ Marin-Guzman (1997) ที่พบว่าการเสริมซีลีเนียมสามารถลดความผิดปกติของอสุจิสุกรพ่อพันธุ์ได้

ดังนั้นเสริม Na_2O_3Se และ Se-yeast สามารถลดความผิดปกติของอสุจิสุกรพ่อพันธุ์ได้เนื่องจากซีลีเนียมเป็นสิ่งที่จำเป็นในกระบวนการสร้างและพัฒนาของตัวอสุจิ โดยซีลีเนียมจะรวมเข้าไปในโปรตีนในไมโทคอนเดรียล อีกทั้งยังเป็นส่วนประกอบของกลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส (GPx) ที่ช่วยป้องกันการโดนทำลายของ cell membrane จากปฏิกิริยาของออกซิเจนและยับยั้งการเกิด lipid peroxide (Hansen and Deguchi, 1996)

5.3 ความแข็งแรงในการเคลื่อนไหวของตัวอสุจิ (Sperm motility)

จากรูปที่ 5.3 พบว่าการเสริมซีลีเนียมอนินทรีย์ (Na_2O_3Se) และซีลีเนียมอินทรีย์ (Se-yeast) ในอาหารสุกรพ่อพันธุ์มีแนวโน้มของการเพิ่มขึ้นและการรักษาระดับเปอร์เซ็นการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ ซึ่งสอดคล้องกับ Marin-Guzman et al. (2000b) ที่รายงานไว้ว่าการเสริม (Na_2O_3Se) ในอาหารสุกรพ่อพันธุ์สามารถเพิ่มการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิได้ พ่อพันธุ์ที่ขาดซีลีเนียมจะมีผลทำให้การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิไม่สมบูรณ์ เนื่องจากการพัฒนาของหางตัวอสุจิผิดปกติ นอกจากนี้การขาดซีลีเนียมยังทำให้อสุจิมีรูปร่างไม่สมบูรณ์ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการเคลื่อนที่เพื่อปฏิสนธิกับไข่ต่ำ ทั้งนี้เนื่องมาจากซีลีเนียมจะทำหน้าที่เป็นองค์ประกอบของเอ็นไซม์ กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส (GPx) ซึ่งมีหน้าที่ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นใน mid piece ของส่วนหางของตัวอสุจิ การเสริมซีลีเนียมจะส่งผลให้ เอ็นไซม์กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส (GPx) เพิ่มสูงขึ้นตามระดับของซีลีเนียมที่เพิ่มขึ้น (Marin-Guzman and Mahan, 1989a) และทำให้ส่วนโครงสร้าง mid piece ของตัวอสุจิจะที่มีไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวที่จะช่วยให้หางของตัวอสุจิมีความยืดหยุ่นในการเคลื่อนที่ทำให้หางของตัวอสุจิแข็งแรงขึ้นเนื่องจาก GPx สามารถลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นที่ส่วนหางของตัวอสุจิลงได้ เป็นผลทำให้ตัวอสุจิสามารถไปปฏิสนธิกับไข่ได้มากขึ้นทำให้อัตราการผสมติดและจำนวนลูกต่อครอกสูงขึ้น (Marin-Guzman et al., 1997; Brown and Burk (1973)

5.4 ปริมาตรของน้ำเชื้อ

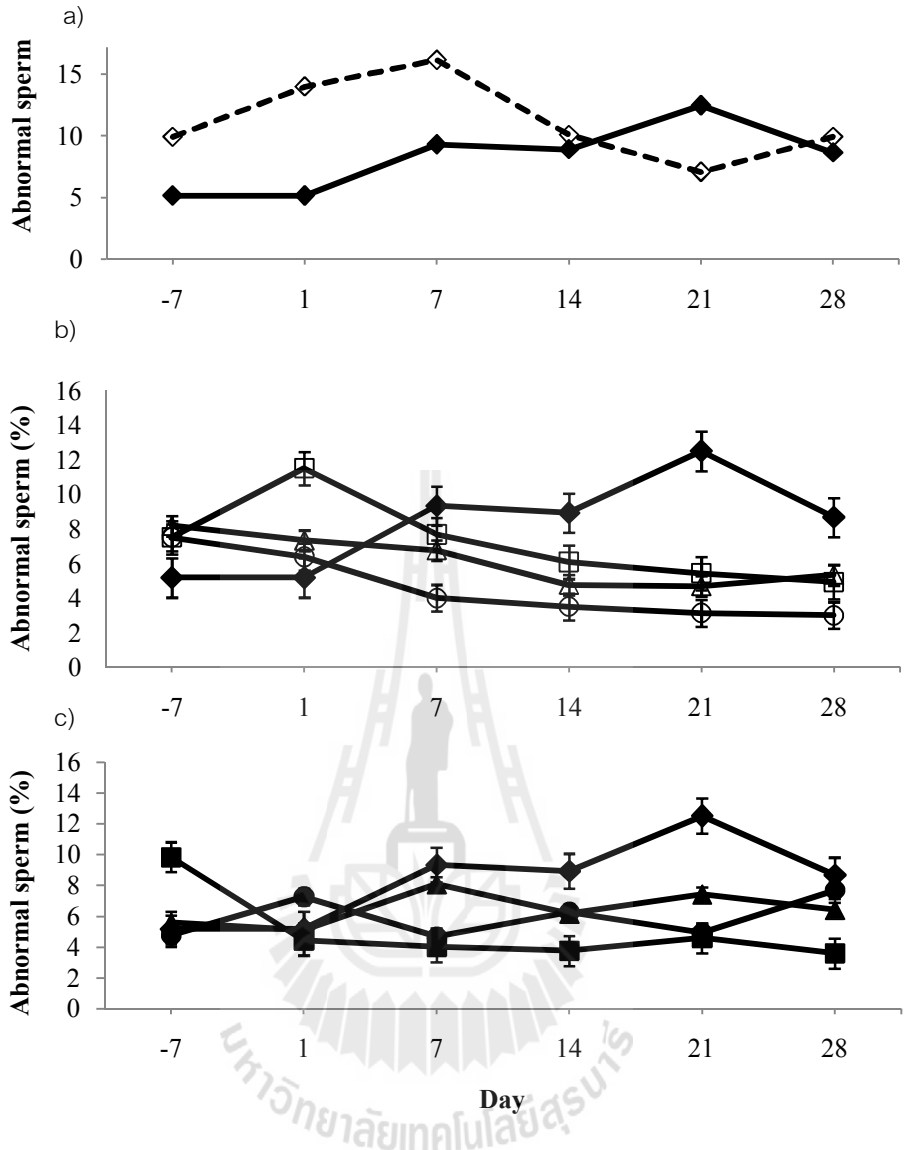
จากรูปที่ 5.4 พบว่าการเสริมซีลีเนียมอนินทรีย์ (Na_2O_3Se) และซีลีเนียมอินทรีย์ (Se-yeast) ในอาหารสุกรพ่อพันธุ์มีแนวโน้มของการเพิ่มขึ้นและรักษาระดับปริมาณน้ำเชื้อของสุกรพ่อพันธุ์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Marin-Guzman et al. (2009) ที่รายงานว่าการเสริมซีลีเนียมสามารถเพิ่มความเข้มข้นของซีลีเนียมใน postate gland, seminal vesicle และ bulbourethral gland (Marin-Guzman et al., 1997; segerson et al., 1981) จากการที่ seminal vesicle มีหน้าที่เกี่ยวกับการผลิตน้ำตาลฟรุกโตสเพื่อเป็นอาหารของตัวอสุจิ ส่วน postate gland มีหน้าที่ในการผลิตสารอาหารอื่นๆ และ bulbourethral gland ทำหน้าที่ผลิตวุ้นเพื่อช่วยในการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิให้เคลื่อนที่ได้เร็วขึ้น ในทางตรงกันข้าม รูปที่ 5.5 แสดงการมีชีวิตของตัวอสุจิของสุกรพ่อพันธุ์ หลังจากทำการเสริมได้ 21 วัน ซีลีเนียมอนินทรีย์ (Na_2O_3Se) ซีลีเนียมอินทรีย์ (Se-yeast) ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของตัวอสุจิ แต่การเสริมยีสต์ที่ระดับ 0.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารกลับมีผลไปลดการมีชีวิตของตัวอสุจิลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

($P<0.05$) อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของตัวอสุจิแสดงในรูปที่ 5.6 และจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดที่แสดงในรูปที่ 5.7 กลับไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ จากข้อมูลนี้แสดงให้เห็นว่าการเสริม Na_2O_3Se และ Se-yeast ไม่มีผลกต่อ ความเข้มข้นของตัวอสุจิและจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดของสุกรพ่อพันธุ์ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Marin-Guzman et al. (1997)

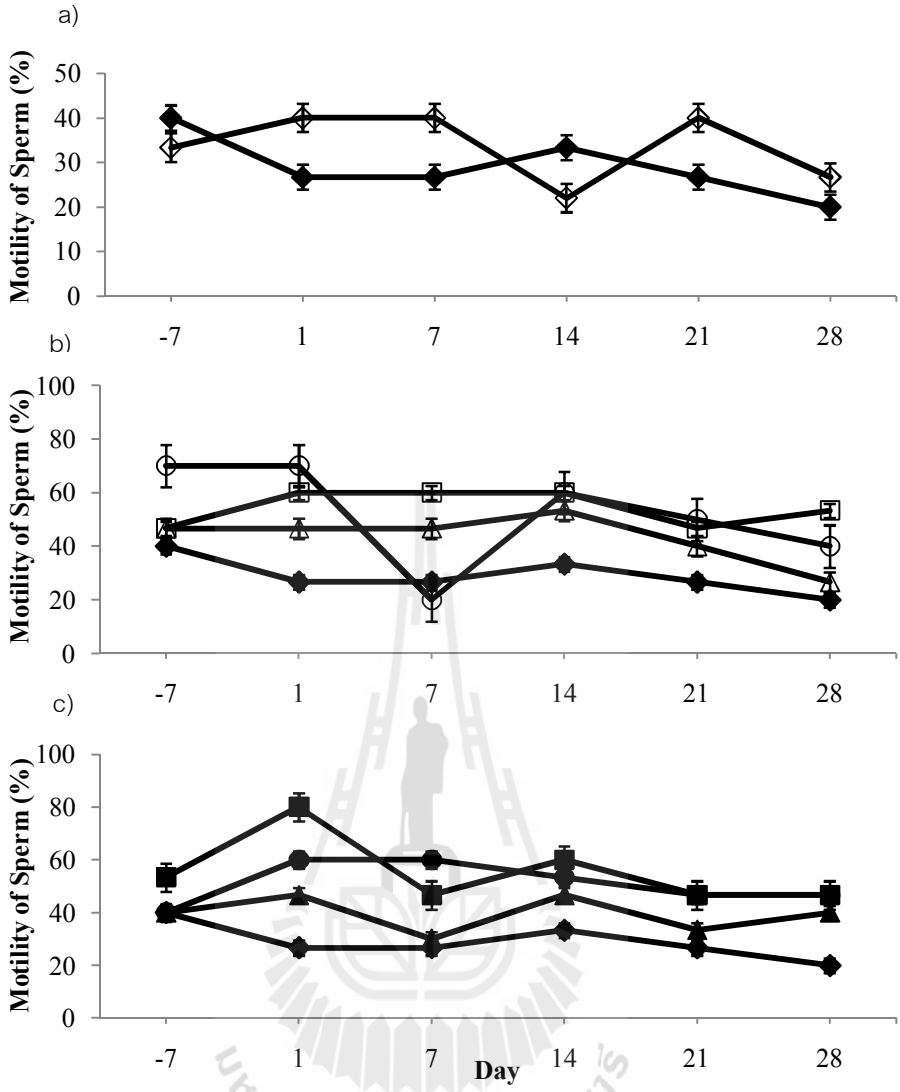
ตารางที่ 5.1 องค์ประกอบทางเคมีในอาหารสุกรที่ใช้ในการทดลอง (%)

องค์ประกอบทางเคมี	อาหาร							
	1	2	3	4	5	6	7	8
วัตถุแห้ง	92.43 ±0.19	92.49 ±0.19	92.65 ±0.03	92.94 ±0.26	92.47 ±0.11	92.70 ±0.35	92.44 ±0.19	92.60 ±0.15
โปรตีน	17.41 ±0.10	17.04 ±0.53	16.85 ±0.51	17.70 ±0.09	17.52 ±0.10	17.45 ±0.46	17.53 ±0.08	17.50 ±0.06
ไขมัน	4.38± 0.16	4.40± 0.20	4.45± 0.16	4.60± 0.03	4.39± 0.16	4.41± 0.20	4.55± 0.07	4.62± 0.02
ไฟเบอร์	5.88± 0.37	6.34± 0.68	6.42± 0.16	6.16± 0.15	5.86± 0.30	6.74± 0.15	6.29± 0.12	6.55± 0.04
เถ้า	0.07± 0.00	0.07± 0.01	0.08± 0.00	0.08± 0.01	0.07± 0.00	0.07± 0.01	0.08± 0.01	0.07± 0.00

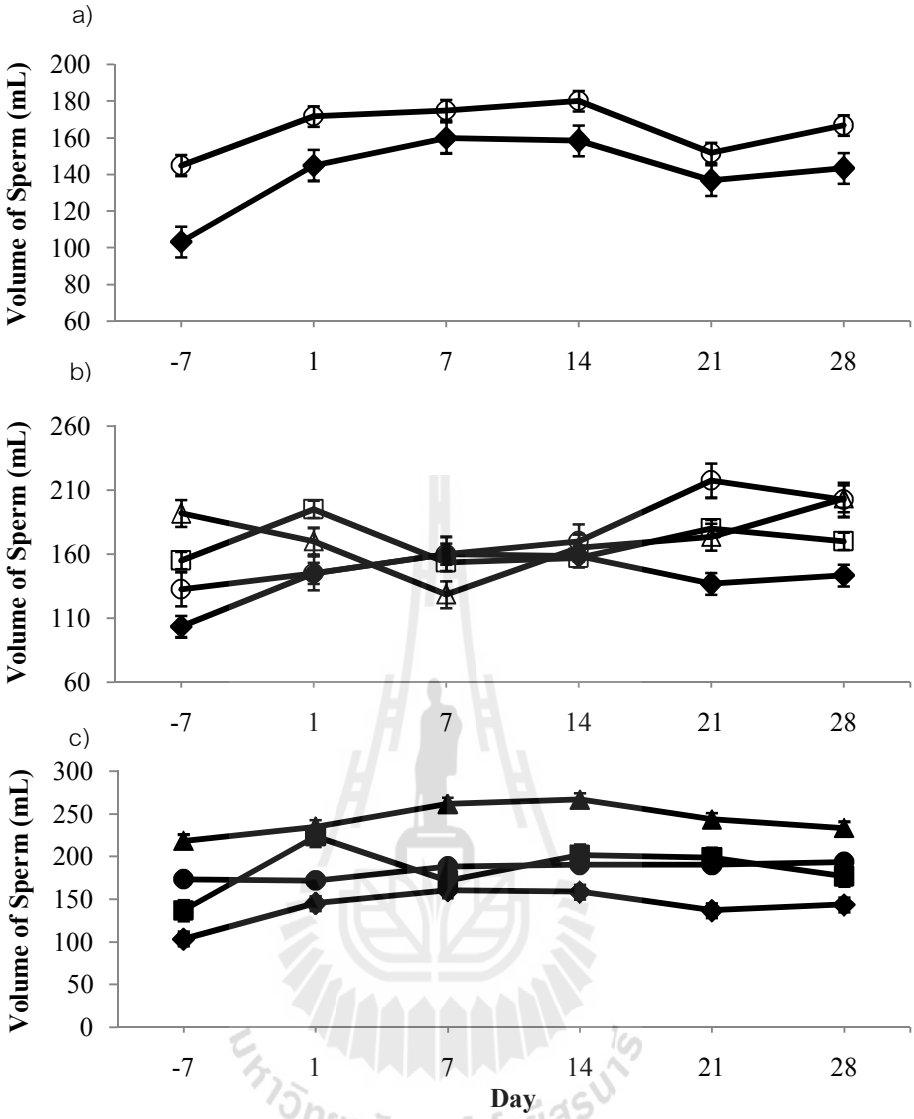
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



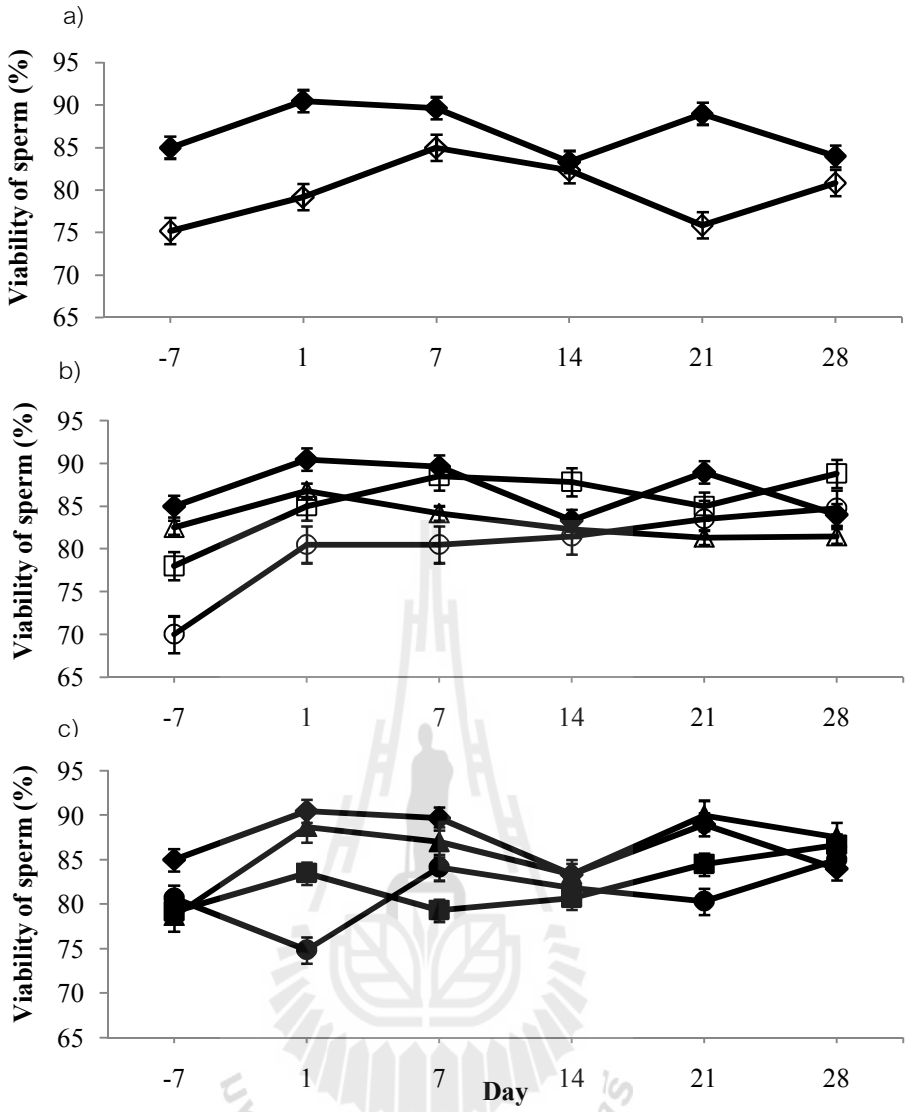
รูปที่ 5.2 ผลของการเสริม Se-yeast, Na_2O_3Se และ yeast ลงในอาหารทางการค้าต่อความผิดปกติของตัวอสุจิของสุกรพ่อพันธุ์ a) yeast และ commercial, b) inorganic Se, c) Se-yeast สูตรอาหารที่ 1 (◆) ให้อาหารทางการค้า, สูตรอาหารที่ 2 (◇) ให้อาหารทางการค้าเสริมด้วย yeast (0.60 mg/kg ของอาหารทางการค้า), สูตรอาหาร 3, 4, 5 เป็นสูตรอาหารทางการค้าที่เสริมด้วย Na_2O_3Se 0.15 (Δ), 0.45 (□), 0.60 (○) mg/kg ของอาหารทางการค้าตามลำดับ สูตรอาหารที่ 6, 7 และ 8 ประกอบไปด้วยการเสริม Se-yeast 0.15 (▲), 0.45 (■), 0.60 (●) mg/kg ของอาหารทางการค้าตามลำดับ



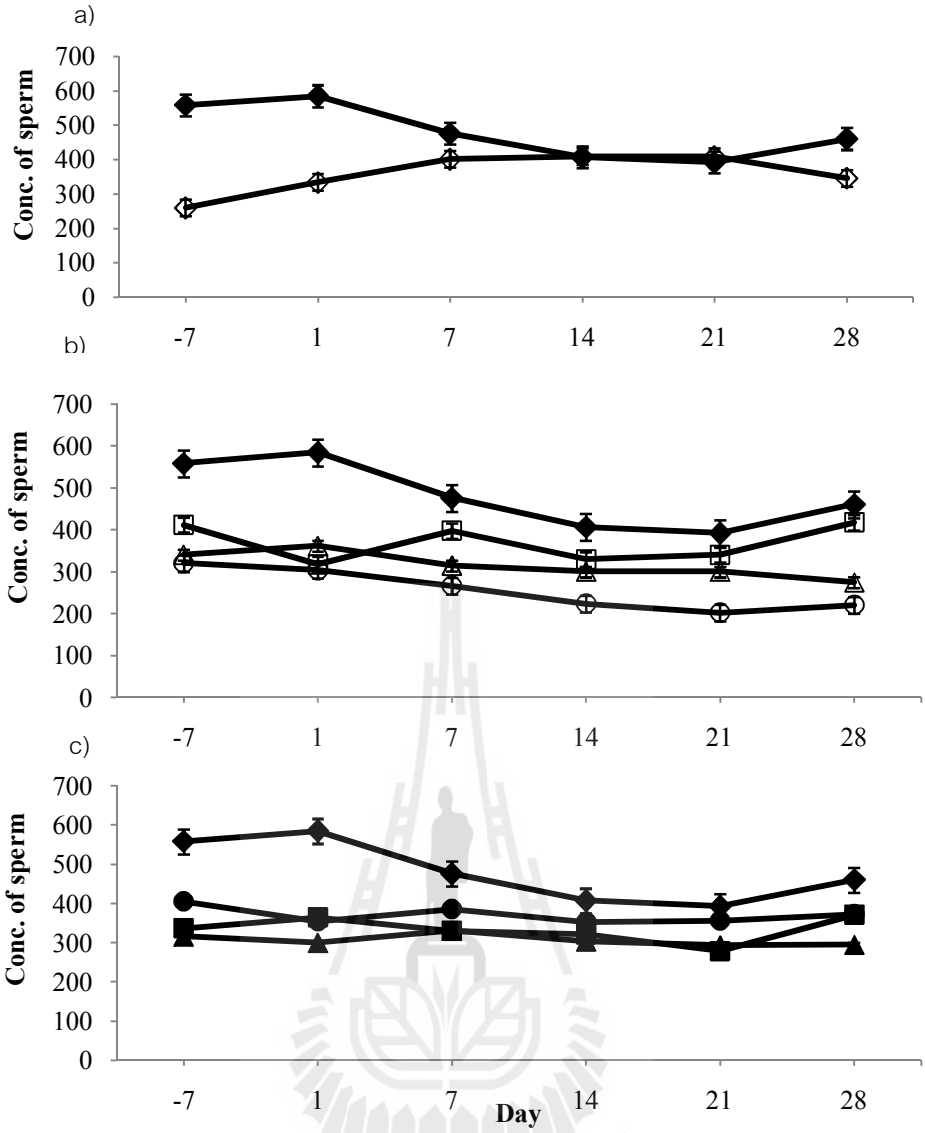
รูปที่ 5.3 ผลของการเสริม Se-yeast, Na_2O_3Se และ yeast ลงในอาหารทางการค้าต่อการเคลื่อนที่ได้ของตัวอสุจิของสุกรพ่อพันธุ์ a) yeast และ commercial, b) inorganic Se, c) Se-yeast สูตรอาหารที่ 1 (◆) ให้อาหารทางการค้า, สูตรอาหารที่ 2 (◇) ให้อาหารทางการค้าเสริมด้วย yeast (0.60 mg/kg ของอาหารทางการค้า), สูตรอาหาร 3, 4, 5 เป็นสูตรอาหารทางการค้าที่เสริมด้วย Na_2O_3Se 0.15 (△), 0.45 (□), 0.60 (○) mg/kg ของอาหารทางการค้าตามลำดับ สูตรอาหารที่ 6, 7 และ 8 ประกอบไปด้วยการเสริม Se-yeast 0.15 (▲), 0.45 (■), 0.60 (●) mg/kg ของอาหารทางการค้าตามลำดับ



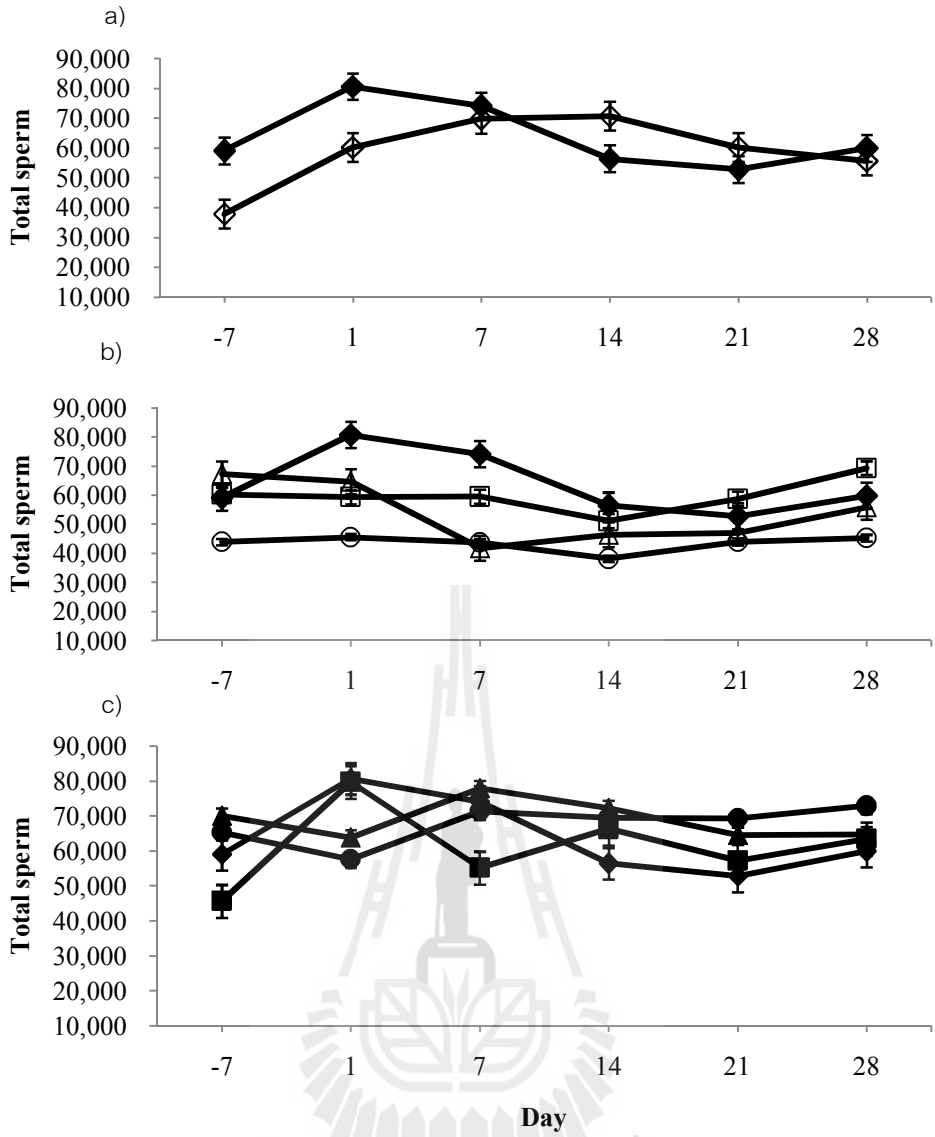
รูปที่ 5.4 ผลของการเสริม Se-yeast, Na_2O_3Se และ yeast ลงในอาหารทางการค้าต่อปริมาณของตัวอสุจิของสุกรพ่อพันธุ์ a) yeast และ commercial, b) inorganic Se, c) Se-yeast สูตรอาหารที่ 1 (◆) ให้อาหารทางการค้า, สูตรอาหารที่ 2 (◇) ให้อาหารทางการค้าเสริมด้วย yeast (0.60 mg/kg ของอาหารทางการค้า), สูตรอาหาร 3, 4, 5 เป็นสูตรอาหารทางการค้าที่เสริมด้วย Na_2O_3Se 0.15 (Δ), 0.45 (□), 0.60 (○) mg/kg ของอาหารทางการค้าตามลำดับ สูตรอาหารที่ 6, 7 และ 8 ประกอบไปด้วยการเสริม Se-yeast 0.15 (▲), 0.45 (■), 0.60 (●) mg/kg ของอาหารทางการค้าตามลำดับ



รูปที่ 5.5 ผลของการเสริม Se-yeast, Na_2O_3Se และ yeast ลงในอาหารทางการค้าต่อการมีชีวิตของตัวอสุจิของสุกรพ่อพันธุ์ a) yeast และ commercial, b) inorganic Se, c) Se-yeast สูตรอาหารที่ 1 (◆) ให้อาหารทางการค้า, สูตรอาหารที่ 2 (◇) ให้อาหารทางการค้าเสริมด้วย yeast (0.60 mg/kg ของอาหารทางการค้า), สูตรอาหาร 3, 4, 5 เป็นสูตรอาหารทางการค้าที่เสริมด้วย Na_2O_3Se 0.15 (Δ), 0.45 (□), 0.60 (○) mg/kg ของอาหารทางการค้าตามลำดับ สูตรอาหารที่ 6, 7 และ 8 ประกอบไปด้วยการเสริม Se-yeast 0.15 (▲), 0.45 (■), 0.60 (●) mg/kg ของอาหารทางการค้าตามลำดับ



รูปที่ 5.6 ผลของการเสริม Se-yeast, Na_2O_3Se และ yeast ลงในอาหารทางการค้าต่อความเข้มข้นของตัวอสุจิของสุกรพ่อพันธุ์ a) yeast และ commercial, b) inorganic Se, c) Se-yeast สูตรอาหารที่ 1 (◆) ให้อาหารทางการค้า, สูตรอาหารที่ 2 (◇) ให้อาหารทางการค้าเสริมด้วย yeast (0.60 mg/kg ของอาหารทางการค้า), สูตรอาหาร 3, 4, 5 เป็นสูตรอาหารทางการค้าที่เสริมด้วย Na_2O_3Se 0.15 (△), 0.45 (□), 0.60 (○) mg/kg ของอาหารทางการค้าตามลำดับ สูตรอาหารที่ 6, 7 และ 8 ประกอบไปด้วยการเสริม Se-yeast 0.15 (▲), 0.45 (■), 0.60 (●) mg/kg ของอาหารทางการค้าตามลำดับ



รูปที่ 5.7 ผลของการเสริม Se-yeast, Na_2O_3Se และ yeast ลงในอาหารทางการค้าต่อปริมาณทั้งหมดของตัวอสุจิของสุกรพ่อพันธุ์ a) yeast และ commercial, b) inorganic Se, c) Se-yeast สูตรอาหารที่ 1 (◆) ให้อาหารทางการค้า, สูตรอาหารที่ 2 (◇) ให้อาหารทางการค้าเสริมด้วย yeast (0.60 mg/kg ของอาหารทางการค้า), สูตรอาหาร 3, 4, 5 เป็นสูตรอาหารทางการค้าที่เสริมด้วย Na_2O_3Se 0.15 (△), 0.45 (□), 0.60 (○) mg/kg ของอาหารทางการค้าตามลำดับ สูตรอาหารที่ 6, 7 และ 8 ประกอบไปด้วยการเสริม Se-yeast 0.15 (▲), 0.45 (■), 0.60 (●) mg/kg ของอาหารทางการค้าตามลำดับ

5.5 ค่าทางโลหิตวิทยาและค่าทางชีวเคมีในเลือดของสุกรพ่อพันธุ์ที่ได้รับการเสริม yeast, Na_2O_3Se และ Se-yeast ลงในอาหาร

ค่าทางโลหิตวิทยาและค่าทางชีวเคมีในเลือดของสุกรพ่อพันธุ์เปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานของสุกร โดยสุกรพ่อพันธุ์จะได้รับการเสริม yeast, Na_2O_3Se และ Se-yeast ลงในอาหารทางการค้า สูตรอาหารที่ 1ให้อาหารทางการค้า, สูตรอาหารที่ 2 ให้อาหารทางการค้าเสริมด้วย yeast (0.60 mg/kg ของอาหารทางการค้า), สูตรอาหาร 3, 4, 5 เป็นสูตรอาหารทางการค้าที่เสริมด้วย Na_2O_3Se 0.15, 0.45, 0.60 mg/kg ของอาหารทางการค้าตามลำดับ สูตรอาหารที่ 6, 7 และ 8 ประกอบไปด้วยการเสริม Se-yeast 0.15, 0.45, 0.60 mg/kg ของอาหารทางการค้าตามลำดับ

จากตารางที่ 5.1 แสดงให้เห็นผลการวิเคราะห์หาค่าทางโลหิตวิทยา (Hematology values) เช่น RBC, Hemoglobin, Hematocrit, MCV, MCH และ MCHC ตารางที่ 5.2 ค่าเม็ดเลือดขาวของสุกรพ่อพันธุ์ (Leukocytic analyses) เช่น WBC , Lymphocyte, Monocyte, Eosinophil, Basophil และตารางที่ 5.3 ค่าทางชีวเคมีในเลือดเช่น Cholesterol, triglyceride ของสุกรพ่อพันธุ์ที่ได้รับการเสริมเสริม yeast, Na_2O_3Se และ Se-yeast ลงในอาหารยังอยู่ในช่วงค่ามาตรฐานของสุกร ในทางตรงกันข้ามเลือดของสุกรพ่อพันธุ์ในกลุ่มที่ 1 ที่ไม่ได้รับการเสริมใดๆในอาหารเลยกลับมีค่าของ HDL (ไขมันดี) ต่ำกว่าค่ามาตรฐานของสุกร ในขณะที่สุกรที่ได้รับการเสริม Na_2O_3Se 0.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (อาหารสูตรที่ 5) และ Se-yeast ที่ระดับ 0.45 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (อาหารสูตรที่ 7) กลับมีค่า HDL สูงกว่าค่ามาตรฐานและสุกรที่ได้รับการเสริม yeast, Na_2O_3Se และ Se-yeast ในระดับอื่นๆก็มีค่า HDL อยู่ในระดับค่ามาตรฐานของสุกร สำหรับค่า LDL (ไขมันเลว) เลือดของสุกรพ่อพันธุ์ในกลุ่มที่ 1 ที่ไม่ได้รับการเสริมใดๆในอาหารเลยกลับมีค่าของ LDL สูงกว่าค่ามาตรฐานของสุกร

การทำงานของตับและไตแสดงในตารางที่ 5.4 สุกรพ่อพันธุ์ที่ได้รับการเสริม yeast, Na_2O_3Se และ Se-yeast ลงในอาหารทางการค้ามีค่า the total protein, Albumin, total bilirubin, direct bilirubin, SGOT, SGPT and BUN ในเลือดอยู่ในระดับค่ามาตรฐานของกสุกรแต่สุกรพ่อพันธุ์ ที่ไม่มีการเสริมอะไรลงในอาหารเลย (อาหารสูตรที่ 1) และสุกรได้รับการเสริมยีสต์ 0.60 (อาหารสูตรที่ 2) และ Na_2O_3Se 0.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (อาหารสูตรที่ 5) กลับมีค่า creatinine สูงกว่า ค่ามาตรฐานเล็กน้อย (1.0-2.7 mg/dl).

รายงานผลการทดลองของ Martin Rodriguez et al. (2002) แสดงค่า HDL ที่ระดับ 39-45 มิลลิกรัมต่อเดสิลิตร และในการทดลองครั้งนี้แสดงผล HDL ในเลือดของสุกรต่ำสุดที่ 27 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร และสูงสุดอยู่ที่ 53 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ซึ่งเลือดของสุกรพ่อพันธุ์ที่ได้รับการเสริม yeast, Na_2O_3Se และ Se-yeast ยังอยู่ในระดับหรือสูงกว่าค่ามาตรฐาน แต่เลือดของสุกรพ่อพันธุ์ที่ไม่ได้รับการเสริมอะไรเลย (อาหารสูตรที่ 1) กลับมีค่า HDL ต่ำกว่าค่ามาตรฐาน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสุกรพ่อพันธุ์ที่ได้รับอาหารจากสูตรอาหารที่ 1 ซึ่งไม่ได้ทำการเสริมอะไรลงในอาหารเลยอาจมีความผิดปกติกับตับเช่น

อาการตับอักเสบ เนื่องจาก HDL จะทำหน้าที่ขนส่งคอเลสเตอรอลจากเซลล์ต่างๆ ทั่วร่างกายกลับมาที่ตับเพื่อกำจัด (Wikipedia, www. 2012)

สุกรพ่อพันธุ์ที่ได้รับการเสริม Na_2O_3Se 0.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (อาหารสูตรที่ 5) และ Se-yeast ที่ระดับ 0.45 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (อาหารสูตรที่ 7) มีค่า HDL สูงกว่าค่ามาตรฐานแสดงให้เห็นว่าสุกรพ่อพันธุ์ที่มี HDL สูงอาจจะสัมพันธ์กับการทำงานได้ดีของหัวใจและหลอดเลือดหัวใจ เพราะว่า HDL-C เป็นไขมันชนิดดีมีหน้าที่ในการขนส่งคอเลสเตอรอลจากผนังหลอดเลือดแดงกลับไปที่ตับเพื่อกำจัดออกนอกร่างกายและช่วยลดปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจได้ ส่วนสุกรพ่อพันธุ์ที่ได้รับการเสริม yeast, Na_2O_3Se และ Se-yeast ในสูตรอาหารที่ 2, 3, 4, 6 และ 8 แสดงค่า HDL อยู่ในระดับค่ามาตรฐานของสุกร ดังนั้น Se-yeast, Na_2O_3Se และ yeast ที่เสริมลงไปในอาหารมีแนวโน้มของการเพิ่มขึ้นและรักษาระดับ HDL ในเลือดของสุกรพ่อพันธุ์ได้

การวิเคราะห์หาค่า LDL ในเลือดของสุกรพ่อพันธุ์โดยเปรียบเทียบกับค่า LDL จากรายงานผลการทดลองของ Martin Rodriguez et al. (2002) สุกรมีค่า LDL 17-25 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ซึ่งในการทดลองครั้งนี้พบว่าเลือดของสุกรพ่อพันธุ์ที่ได้รับการเสริม yeast, Na_2O_3Se และ Se-yeast ลงในอาหารทางการค้ามีค่า LDL อยู่ในช่วงของค่ามาตรฐาน ในทางตรงกันข้ามผลการทดลองพบว่าสุกรพ่อพันธุ์ที่ไม่ได้รับการเสริมอะไรลงในอาหารเลย (สูตรอาหารที่ 1) กลับมีค่า LDL สูงเกินกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ การเพิ่มขึ้นของค่า LDL ในสุกรกลุ่มนี้แสดงให้เห็นว่าระดับที่สูงของ LDL สัมพันธ์กับโรคหัวใจและหลอดเลือดในหัวใจ เนื่องจาก LDL เป็น ไขมันชนิดเลว มีหน้าที่ในการขนส่งคอเลสเตอรอลไปยังอวัยวะต่างๆของร่างกาย ซึ่งถ้าในเลือดมีระดับ LDL-C น้อยก็จะช่วยลด ปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจได้ ส่วนสุกรพ่อพันธุ์ที่ได้รับการเสริม yeast, Na_2O_3Se และ Se-yeast ในสูตรอาหารที่ 2, 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 แสดงค่า LDL อยู่ในระดับค่ามาตรฐานของสุกร ดังนั้น yeast, Na_2O_3Se และ Se-yeast ที่เสริมลงไปในอาหารสามารถลด LDL ในเลือดของสุกรพ่อพันธุ์ได้

วิเคราะห์การทำงานของไตจากค่าทางชีวเคมีในเลือดของสุกรพ่อพันธุ์

ผลจากการวิเคราะห์หาค่า creatinine ในเลือดของสุกรพ่อพันธุ์โดยเปรียบทียบกับค่ามาตรฐาน 1.0-2.7 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (Hear, www.2012) พบว่าเลือดของสุกรพ่อพันธุ์จากการทดลองมีค่า creatinine อยู่ในช่วง 2.47-3.00 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร เลือดของสุกรพ่อพันธุ์หลังการเสริม Na_2O_3Se และ Se-yeast มีค่า creatinine อยู่ในช่วงค่ามาตรฐาน ยกเว้นเลือดของสุกรพ่อพันธุ์ที่ได้ได้รับอาหารในกลุ่มที่ 1, 2 และ 5 ที่การเสริมมีผลทำให้ค่า creatinine เพิ่มสูงขึ้นเป็น 3.00, 2.77 และ 2.79 ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่เกินค่ามาตรฐานเล็กน้อย โดยค่า creatinine มีความสัมพันธ์กับการทำงานของไต ถ้าการกรองของไตลดลงจะพบว่ามีค่า creatinine ในเลือดเพิ่มสูงขึ้น (Wikipedia, www. 2012) ดังนั้นถ้ามีระดับของ creatinine สูงในเลือด แสดงว่าอาจมีความผิดปกติกับไตได้ สำหรับสุกรพ่อพันธุ์ที่ได้รับอาหารสูตร

อาหารที่ 3, 4, 6, 7 และ 8 ค่า creatinine ในเลือดยังอยู่ในค่ามาตรฐาน ดังนั้นการเสริม yeast, Na_2O_3Se และ Se-yeast ในอาหารสามารถลด creatinine ในเลือดของสุกรพ่อพันธุ์ได้

ในสัตว์กระเพาะเดี่ยวซีลีเนียมอินทรีย์สามารถที่จะสะสมคงอยู่ในกล้ามเนื้อได้มากกว่าซีลีเนียมอนินทรีย์ สำหรับการเสริมซีลีเนียมในระยะยาวซีลีเนียมอินทรีย์ปลอดภัยและดีกว่าซีลีเนียมอนินทรีย์ (Wikipedia, www. 2012) และจากการทดลองครั้งนี้พบว่าการเสริม yeast, Na_2O_3Se และ Se-yeast ในอาหารสุกรพ่อพันธุ์ไม่มีอันตรายต่อสุกรเพราะค่าของค่าทางโลหิตวิทยา (Hematology values) ค่าเม็ดเลือดขาว (Leukocytic values) และค่าทางชีวเคมีในเลือดของสุกรพ่อพันธุ์หลังจากได้รับการเสริมอยู่ในค่ามาตรฐานของสุกรที่เลี้ยงปกติโดยทั่วไป

Table 5.2 ค่าทางโลหิตวิทยา (Hematology values) ของสุกรพ่อพันธุ์ที่ได้รับการเสริม yeast, inorganic Se และ Se-yeast ในอาหาร (mean ± SD, n=3)

Day 28	RBC (10^6/μL)	Hemoglobin (g/dL)	Hematocrit (%)	MCV (fL)	MCH (pg/cell)	MCHC (g/dL)
1	7.26±0.22	14.00±1.00	40.00±2.00	55.03±2.20	19.23±1.07	34.90±0.52
2	6.71±0.76	14.00±0.00	39.00±0.00	57.85±6.86	20.60±2.26	35.60±0.28
3	6.61±1.31	13.33±1.53	37.67±5.69	57.53±3.61	20.37±1.40	35.37±0.47
4	6.32±0.60	13.33±1.53	36.67±3.79	57.57±1.67	20.70±0.52	36.00±0.26
5	5.51±1.32	11.50±2.12	37.00±0.00	57.25±0.64	20.75±0.49	36.20±0.00
6	6.76±0.18	13.50±0.71	38.00±0.00	55.95±0.92	20.25±0.35	36.20±0.42
7	6.52±0.32	13.00±0.00	35.50±0.71	54.85±1.63	19.80±1.13	36.15±0.35
8	6.14±0.78	13.33±1.53	37.33±2.53	61.07±3.76	21.90±1.21	35.80±1.06

ค่าทางโลหิตวิทยามาตรฐานของสุกร RBC (5.0-8.0), Hemoglobin (10.0-16.9), Hematocrit (35.6-2.10), MCV (54.0-73.0), MCH (18.8-25.5), MCHC (32.2-36.5)

Table 5.3 ค่าเม็ดเลือดขาว (Leukocytic values) ของสุกรพ่อพันธุ์ที่ได้รับการเสริม yeast inorganic Se และ Se-yeast ในอาหาร (mean ± SD, n=3)

Day 28	WBC (103/µL)	Lymphocyte (%)	Monocyte (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)
1	14.95±0.07	52.33±16.65	5.00±3.00	7.67±5.86	1.67±2.89
2	15.35±0.21	55.00±4.24	3.50±0.71	7.50±4.95	0.00±0.00
3	16.00±1.25	56.33±10.41	5.00±2.65	6.67±2.52	0.67±0.58
4	14.13±0.67	57.00±9.17	5.00±1.00	4.67±2.52	0.33±0.58
5	15.80±0.00	69.00±26.87	5.00±5.66	6.00±4.24	0.50±0.71
6	15.75±4.88	59.50±7.78	4.00±0.00	6.50±0.71	1.50±0.71
7	10.25±4.31	57.00±9.90	3.00±1.41	3.50±0.71	1.00±1.41
8	13.75±3.45	57.67±6.66	4.33±3.60	1.33±0.58	0.67±0.58

ค่าเม็ดเลือดขาววิทยามาตรฐานของสุกร; WBC (4.7-18.6), Lymphocyte (19.2-72.0), Monocyte (0.0-8.0), Eosinophil (1.0-11.0), Basophil (0.0-2.0)

Table 5.4 ค่าทางชีวเคมีในเลือดของสุกรพ่อพันธุ์ที่ได้รับการเสริม yeast inorganic Se และ Se-yeast ในอาหาร (mean ± SD, n=3).

Day 28	Cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)
1	69.33±16.56	38.33±17.04	27.00±7.02	35.00±7.55
2	63.00±24.04	34.50±21.92	41.00±0.00	23.50±10.61
3	67.00±13.23	21.33±9.50	44.00±7.00	29.00±0.00
4	59.50±10.79	18.33±5.00	44.67±2.00	22.00±5.86
5	70.00±11.31	30.00±13.01	53.00±0.00	22.50±0.71
6	59.00±26.21	30.33±12.50	41.67±13.20	24.33±5.51
7	71.00±25.46	34.00±2.83	49.00±6.36	23.50±4.95
8	55.00±1.15	39.00±21.93	45.00±7.07	20.00±4.36

ค่าทางชีวเคมีในเลือดมาตรฐานของสุกร Cholesterol (50.0-140.0), Triglyceride (14.0-70), HDL (39-45), LDL (17-25).

Table 5.5 ค่าทางชีวเคมีในเลือดของสุกรพ่อพันธุ์ที่ได้รับการเสริม yeast inorganic Se และ Se-yeast ในอาหาร (mean ± SD, n=3).

Day 28	Total protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	Total bililubin (mg/dl)	Direct bililubin (mg/dl)	SGOT (U/L)	SGPT (U/L)
1	8.53±0.68	3.23±0.57	1.03±0.32	0.37±0.12	33.00±1.41	50.50±16.26
2	7.55±0.64	3.50±0.14	0.70±0.99	0.10±0.14	51.00±32.53	71.50±31.82
3	8.37±0.38	3.37±0.64	0.57±0.31	0.10±0.00	32.00±3.61	34.00±7.00
4	7.73±0.72	3.27±0.60	0.50±0.44	0.07±0.12	27.50±2.12	26.50±4.95
5	8.40±0.14	3.45±0.07	1.05±0.78	0.45±0.35	38.50±13.44	32.50±7.78
6	7.70±0.20	3.27±0.50	0.87±0.40	0.13±0.15	47.00±7.07	43.00±5.66
7	7.55±1.20	3.60±0.71	1.15±0.35	0.20±0.00	31.50±12.02	31.50±13.44
8	8.23±0.93	3.50±0.46	0.80±0.61	0.20±0.10	27.50±7.78	55.50±0.71

ค่าทางชีวเคมีในเลือดมาตรฐานของสุกร Total protein (6.7-13.8), Albumin (2.7-3.9), Total bililubin (0.4-1.7), Direct bililubin (0.0-0.5), SGOT (15.0-135.0), SGPT (13-145)

Table 5.6 ค่าทางชีวเคมีในเลือดของสุกรพ่อพันธุ์ที่ได้รับการเสริม yeast inorganic Se และ Se-yeast ในอาหาร (mean ± SD, n=3).

Day 28	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)
1	8.80±1.39	3.00±0.25
2	10.55±2.47	2.77±0.00
3	10.60±2.26	2.47±0.34
4	9.03±1.72	2.59±0.33
5	10.85±0.35	2.79±0.00
6	11.10±1.23	2.65±0.09
7	9.40±0.28	2.51±0.00
8	10.07±1.23	2.56±0.09

ค่าทางชีวเคมีในเลือดมาตรฐานของสุกร BUN (8.0-24.0), creatinine (1.0-2.7)

บทที่ 6
สรุปผลการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้ได้แบ่งการทดลองออกเป็นสองการทดลองคือการผลิตซีลีเนียมยีสต์ (Se-yeast) และการตรวจสอบคุณภาพของน้ำเชื้อของสุกรพ่อพันธุ์เมื่อให้อาหารทางการค้าที่มีการเสริมซีลีเนียมยีสต์ ยีสต์และซีลีเนียมอนินทรีย์

การทดลองที่หนึ่งเป็นการผลิตซีลีเนียมยีสต์โดยการคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์จำนวน 14 สายพันธุ์ โดยทำการเลี้ยงในอาหารที่มีการเสริมด้วยโซเดียมซีลีไนด์ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า *Saccharomyces bayanus* สามารถตรึงซีลีเนียมไว้ภายในเซลล์ได้มากที่สุดคือ 6.63 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและมีปริมาณซีลีเนียมต่อน้ำหนักแห้งสูงสุดที่ 2.51 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมและเมื่อเลี้ยงในถังหมักขนาด 5 ลิตรพบว่าการเลี้ยง *S. bayanus* เป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีปริมาณซีลีเนียมต่อน้ำหนักแห้งสูงที่สุดที่ 6.43 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมและสามารถตรึงซีลีเนียมไว้ภายในเซลล์ได้มากที่สุดคือ 6.91 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรในการทดลองที่สองเป็นการตรวจสอบคุณภาพของน้ำเชื้อของสุกรพ่อพันธุ์เมื่อให้อาหารทางการค้าที่มีการเสริม ยีสต์ ซีลีเนียมอนินทรีย์ และซีลีเนียมยีสต์ ในระยะสั้นเพื่อตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อของสุกรพ่อพันธุ์โดยอาหารสูตรที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมและ 2 ผสมยีสต์ 0.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร สำหรับสูตรอาหารที่ 3, 4 และ 5 ผสมซีลีเนียมอนินทรีย์ที่ระดับ 0.15, 0.45 และ 0.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารตามลำดับ ส่วนสูตรอาหารที่ 6, 7 และ 8 ผสมซีลีเนียมยีสต์ที่ระดับ 0.15, 0.45 และ 0.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารตามลำดับ จากการเก็บรวบรวมข้อมูลและวิเคราะห์ลักษณะน้ำเชื้อเช่น ความผิดปกติของตัวอสุจิ การมีชีวิตของตัวอสุจิ การเลื่อนที่ได้ปริมาณ ความเข้มข้นและจำนวนอสุจิทั้งหมด พบว่าการเสริมซีลีเนียมยีสต์และซีลีเนียมอนินทรีย์มีแนวโน้มของการเพิ่มขึ้นและรักษาระดับเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิปริมาณน้ำเชื้อของสุกรพ่อพันธุ์เมื่อเทียบกับสุกรพ่อพันธุ์ที่กินอาหารปกติ มากไปกว่านั้นเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติของตัวอสุจิของสุกรพ่อพันธุ์ยังลดลงอีกด้วย ($P>0.05$) แต่การเสริมซีลีเนียมไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของตัวอสุจิ ความเข้มข้นของตัวอสุจิและจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดของน้ำเชื้อในสุกรพ่อพันธุ์ ขณะเดียวกันเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าการเสริมซีลีเนียมอนินทรีย์และซีลีเนียมยีสต์ไม่มีผลต่อค่าโลหิตวิทยาและค่าทางชีวเคมีในเลือดของสุกรพ่อพันธุ์

10. เอกสารอ้างอิงของโครงการวิจัย

ถวัลย์ วรรณกุล. (2526). การจัดการฟาร์มเพื่อประสิทธิภาพการผลิตสุกรพันธุ์. สำนักพิมพ์ศรีวิศวกรรม, กรุงเทพฯ. หน้า 225-226.

ศรีสุวรรณ ชมชัย. 2542. คู่มือปฏิบัติการผสมเทียมในสุกร. พิมพ์ครั้งที่2. ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม. 285 น.

Axley, M. J. and Stadtman, T. C. (1989). Selenium metabolism and selenium depen enzymes in microorganisms. **Annual Review of Nutrition**. 9: 127-137.

Bearder, H.J. and Fuquay, J. W. (1980). Applied Animal Reproduction. Reston Publishing Company, Inc. A Prentice –Hall Company. Reston, Virginia. 337.

Esaki, N., Tanaka, H., Uemura, S., Suzuki, T. and Soda, K. (1982). Selenocysteine lyase, a novel enzyme that specifically acts on selenocysteine. **Journal of Biological Chemistry**. 257: 4386-4391.

Ganther, H. E. (1966). Enzymic syntheis of dimethyl selenide from sodium selenite in mouse extracts. **Biochemistry**. 5: 1089-1098.79

Henson, M.C., Kattesh, H. G., Hitchcock, J. P., Kincaid, A. (1983). The effect of dietary selenium on growth and selected reproductive parameters in young boars**. Animal Production.** 37: 401-407.

Hoffman, J. L., McConnell, K. P. and Carpenter, D. R. (1907). Aminoacylation of *Escherichia coli.* **Biochim Biophys Acta**. 199: 531-534.

Hsieh, H.S. and Ganther, H.E. (1975). Acid-volatile selenium formation catalyzed by glutathione reductase. **Biochemistry**. 14: 1632-1636.

Kolodziej ,A. and E. jacyno. (2005). Effect of selenium and vitamin E supplementation on reproductive performance of young boars. **Archiv for tierzucht.** 48: 68-75.

Mahan, D.C. , and N.A. Perrett. 1996. Evaluating the effecy of selenium on tissue selenium retention and serum glutathione peroxidase activity in grower and finisher swine. **Journal of Animal Science**. 74: 2967-2974.

Marin-Guzman J., Mahan, D.C. and Pate, J.L. (2000). Effect of dietary selenium and vitamin E on spermatogenic development in boars. **Journal of Animal Science.** 78: 1537-1543.

Marin-Guzman, J., D.C. Mahan, Y.K.Chung, J.L. Pate, and W.F.Pope.1997. Effect of dietary selenium and vitamin E on boar performance and tissue responses, semen quality, and subsequent fertilization rates in mature gilts**. Journal of Animal Science**. 75: 2994-3003.

Sunde, R. A. (1997). Selenium. In **Handbook of Nutritionally Essen (O'Dell B. L. and Sunde, R. A. eds.)**. Marcel Dekker. p. 493

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Curriculum vitae

Name: **Chokchai Wanapu (Intapruk)**

Sex: Male

Nationality: Thai

Religion: Buddhism

Home Address: 114/246 Ratchsima-Pakthongchai Road, Nong Ja Bok, Muang, Nakhon ratchasima 30000, Thailand.

Present Status: Associate Professor in Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology, Nakonratchasima 30000, Thailand.

Education Background and Experience:

From 1978 - 1982: B.Sc. (Chemistry) from Department of Chemistry, Faculty o f Science, Chiangmai University, Chiangmai, Thailand.

From 1982 - 1984: M.Sc. (Biochemistry) from Department of Biochemistry, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok, Thailand.

From 1991 - 1994: Ph.D. (Engineering in Biotechnology) from Department of Biotechnology, Faculty of Engineering, Osaka University, Osaka, Japan.

From 1996 – 1997: Head of Department of Biochemistry, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hatyai, Songkla 90110, Thailand.

From 1997 – 1999: Director of Center of Scientific and Equipment, Walailak University, Nakonsritummarat 80000, Thailand.

From 1999 – 2001: Director of Technopolis, Suranaree University of Technology, Nakhonratchasima 30000, Thailand.

From 2002 – 2005: Manager of SUT's Farm, Suranaree University of Technology, Nakhonratchasima 30000, Thailand.

From 2006 – 2011: Chair, School of Biotechnology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology, Nakhonratchasima 30000, Thailand.

Scientific Experients:

Plant and microbial molecular genetics

Fermentation Techniques

Biopolymers

Symposium:

Krongjai, T. and **Wanapu, C.** (2004) The transformation of chitinase gene into grape plants. The 4th National Symposium on Graduate Research. 94.

Usansa, U., **Wanapu, C.** and Boonkerd. N. (2004) Effect of alcoholic fermentation temperature on red wine flavor. The 4th National Symposium on Graduate Research. 124.

Wongkalasin, K., **Wanapu, C.** and Rodtong, S. (2004) Selection of maolactic bacteria for wine fermentation. The 4th National Symposium on Graduate Research. 128.

Kuapunyakoon, T., **Wanapu, C.**, Boonkerd, N. and Chervin,C. (2004) What is the gene which expression depends ethylene receptor inhibition in berry of Carbernet Sauvignon at veraison. The 4th National Symposium on Graduate Research. 93.

Cheunkum, O. and **Wanapu, C.** (2002) Production of Lactic acid from cassava solid waste.The 3rd National Symposium on Graduate Research.633-634.

Sripunya, P. and **Wanapu, C.** (2005) Selection of Yeast Strains Containing ß-glucosidase for improving Aroma in Grape Wine. 31st Congress on Science and Technology of Thailand at Suranaree University of Technology, 18 – 20 October 2005, B0100.

Tasing, K., **Wanapu, C.**, Boonkerd, N., Wongkaew, S. (2005) Transformation of grape calli variety shiraz with Leucaena chitinase cDNA. 31st Congress on Science and Technology of Thailand at Suranaree University of Technology, 18 – 20 October 2005, B0109.

Wongkalasin, K., **Wanapu, C.** and Rodtong, S. (2005) Selection of malolactic bacteria for wine fermentation. 31st Congress on Science and Technology of Thailand at Suranaree University of Technology, 18 – 20 October 2005, B0116.

Lertpinyochaithaworn, N., Sripiromrak, A. and **Wanapu, C.** (2005) Ma-Maow wine production. 31st Congress on Science and Technology of Thailand at Suranaree University of Technology, 18 – 20 October 2005, B0139.

Usansa, U., **Wanapu, C.** and Boonkerd, N. (2005) Effect of alcoholic fermentation temperature on red wine flavor. 31st Congress on Science and Technology of Thailand at Suranaree University of Technology, 18 – 20 October 2005, F0028.

Wanapu, C., Rattana, P., Teaumroong, N. and Boonkerd, N. (2005) Success stories of stainable factory Management for the Thai traditional alcoholic beverage enterprises. In International Symposium on "Corporate sustainablility management – approaches and applications" 24-25 November 2005, Bangkok. Session 2B-3: 1-8.

Boonkerd N., Teaumroong, N., **Wanapu C.** and Chankhun Y. (2005) Application of Bio and Bioorganic fertilizers in organic farming systems for sustainable agriculture. In International Symposium on "Corporate sustainablility management – approaches and applications" 24-25 November 2005, Bangkok. Session 2B-4: 1-7.

Muaenjang, T. and **Wanapu, C.** (2006) The study of ethanol production of thermotolerant yeast S1 strain. The 11th Biological Science Graduate Congress, 15-17 December 2006, Bangkok.

Sripiromrak, A. and **Wanapu, C.** (2006) Isolation and classification of thermotolerant yeast for ethanol production. The 11th Biological Science Graduate Congress, 15-17 December 2006, Bangkok.

Wasuwan, R., Boonkerd, N. and **Wanapu, C.** (2006) Classification and nitrogen fixation efficiency analysis of *Azolla* species in rice fields of Thailand. The 11th Biological Science Graduate Congress, 15-17 December 2006, Bangkok.

Usansa, U., Wanapu, C. and N. Boonkerd (2005) Effect of alcoholic fermentation temperature on red wine flavor. 31st Congress on Science and Technology of Thailand, Chaing Mai, 2005.

Usansa U., Burberg, F. Geiger, E., Back W., Tea-umroong, N., **Wanapu, C**. Arendt, E. K., Kreisz, S. and Zarnkow, M. (2008) The use of response surface methodology to optimize malting conditions of two black rice varieties (*Oryza sativa* L. indica) as a raw material for gluten- free foods. First International Symposium on Gluten-Free Products and Beverages, Cork, Ireland, September 2008.

Usansa, U., Burberg, F. Geiger, E., Back W., Tea-umroong, N., **Wanapu, C**. Arendt, E. K., Kreisz, S. and Zarnkow, M. (2009) The optimization of malting condition for Thai rice. 10th RGJ- Congress. Pattaya, April 2009.

Usansa, U, Geiger, E., **Wanapu, C**. and Teaumroong, N. (2009) Improvement of nitrogenous content in wort produced from rice malt. ASBC Annual Meeting. Arizona, USA June 6-10, 2009.

Kongkaew, A., Wanapu, C. and Usansa, U. (2010). Response surface optimization of wort production for brewing from rice malt using commercial enzymes and malt barley. The 16th Asian Agricultural Symposium on Agricultural Technology: Sufficiency Agriculture, August 25 – 27, 2010, Faculty of Agricultural Technology, KMITL, Bangkok, Thailand.

Satsum, A, and **Wanapu, C**. (2010). FT-IR study for hydroxyapatite/alginate nanocomposite beads. The 3rd SUT Graduate Conference 2010, November 21 – 23, 2010, Suranaree University of Technology, Nakhonratchasima, Thailand.

Li, L., **Wanapu, C**., Huang, X., Huang Q., and Huang, T. (2010). Genetic variation of *Brassica napus* cultivars using SSR markers. The 3rd SUT Graduate Conference 2010, November 21 – 23, 2010, Suranaree University of Technology, Nakhonratchasima, Thailand.

Kongkaew, A., Wanapu, C., and Usansa, U. (2010). Beer production from rice malt based in pilot scale brewing : chemical and sensorial properties approach. The 3rd SUT Graduate Conference 2010, November 21 – 23, 2010, Suranaree University of Technology, Nakhonratchasima, Thailand.

Pinpeangchan, S, And **Wanapu, C**. (2012). Controlled releasing of urea fertilizer by biodegradable polymer with convertional encapsulation. Burapha University International Conference 2012, July 9-11, 2012, Burapha University, Chonburi Thailand.

Ditsayabut, P., Kupittayanant P., and **Wanapu, C**. (2012). High selenium-Enriched Yeast Production. Burapha University International Conference 2012, July 9-11, 2012, Burapha University, Chonburi Thailand.

Ditsayabut, P., Kupittayanant P., and **Wanapu, C**. (2012). High selenium-Enriched Yeast Production. School of Biotech, IAT, SUT 1st International Colloquium, July 16-20, 2012, Suranaree University of Technology, Nakhonratchasima, Thailand.

Lertpinyochaithaworn N, and **Wanapu, C**. (2012). Effect of ethanolic on black-kernal rice flavonoids character. School of Biotech, IAT, SUT 1st International Colloquium, July 16-20, 2012, Suranaree University of Technology, Nakhonratchasima, Thailand.

Muaenjang, T., Ponchana P., and **Wanapu, C**. (2012). Improved Enzymatic Hydrolysis of Cassava Residue by Polyethylene Glycol Addition. School of Biotech, IAT, SUT 1st International Colloquium, July 16-20, 2012, Suranaree University of Technology, Nakhonratchasima, Thailand.

Pinpeangchan, S, And **Wanapu, C**. (2012). Controlled releasing of urea fertilizer by biodegradable polymer with convertional encapsulation. School of Biotech, IAT, SUT 1st International Colloquium, July 16-20, 2012, Suranaree University of Technology, Nakhonratchasima, Thailand.

Pliansrithong P., Usansa U., and **Wanapu, C**. (2012).Protein Properties in Broken Rice for optimizing of Rice Ratio in Beer Production. School of Biotech, IAT, SUT 1st International Colloquium, July 16-20, 2012, Suranaree University of Technology, Nakhonratchasima, Thailand.

Satsum, A, and **Wanapu, C**. (2012). FT-IR study for Aiginate/Hydroxyapatite/latex Nanocomposite Beads. School of Biotech, IAT, SUT 1st International Colloquium, July 16-20, 2012, Suranaree University of Technology, Nakhonratchasima, Thailand.

Scientific Publication:

Intapruk, C., Tirawanchai, N., Wilairat, P. and Panyim, S. (1984). Application of cloned malaria parasite DNA in strain identification. Mahidol University Annual Research Abstracts 11, 297.

Intapruk, C. (1984). in Manual for international laboratory workshop "Genetic engineering techniques in tropical diseases research" to be published by WHO special programme for research and training in tropical diseases, 195-204.

Wilairat, P., Tirawanchai, N., **Intapruk, C.**, Tungpradubkul, S. and Panyim, S. (1984). Strain characterization of human malaria parasite, *Plasmodium falciparum*, by the use of a cloned parasite DNA probe. Microbial utilization of renewable resources. 4, 210-213.

Tirawanchai, N., **Intapruk, C.**, Wilairat, P., Yuthavong, Y. and Panyim, S. (1985). Cloning of repetitive DNA from *Plasmodium falciparum* and its use in strain and species identification. Mahidol University Annual Research Abstracts, 12, 250.

Intapruk, C. (1985). in Manual for national laboratory workshop "DNA cloning techniques" (in Thai) to be published by the National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, the Ministry of Science and Technology, 172-188.

Wilairat, P., Tirawanchai, N., **Intapruk, C.**, Tungpradabkul, S., Sertsrivanich, R., Panyim, S., Yuthavong, Y. (1985). Recombinant DNA techniques as potential diagnostic means. Ann. Ist. Super. Sanita. 21, 299-305.

Sriroongrueng, W. and **Intapruk, C.** (1989) The prenatal diagnosis of thalassemias (in Thai). Songkla Med J. 6, 428-435.

Intapruk, C., Higashimura, N., Yamamoto, K., Okada, N., Shinmyo, A. and Takano M (1991). Nucleotide sequences of two genomic DNAs encoding peroxidase of *Arabidopsis thaliana*. Gene 98: 237-241.

Intapruk, C., Yamamoto, K., Fujiyama, K., Shinmyo, A. and Takano, M. (1993). Cloning of cDNAs encoding two peroxidases of *Arabidopsis thaliana*. J Ferment Bioeng 75: 166-172.

Shinmyo, A., Fujiyama, K., Kawaoka, A. and **Intapruk, C.** (1993). Structure and expression of peroxidase isozyme genes in horseradish and *Arabidopsis*. *In*: KG Welinder, SK Rasmussen, C Penel and H Greppin, eds, Plant Peroxidases Biochemistry and Physiology. Univ Geneva, Switzerland, pp 222-228.

Intapruk, C., Yamamoto, K., Sekine, M., Shinmyo, A. and Takano, M. (1994). Regulatory sequences involved in the peroxidase gene expression in *Arabidopsis thaliana*. Plant Cell Reports 13: 123-129.

Intapruk, C., Takano, M. and Shinmyo, A. (1994). Nucleotide sequence of a new cDNA for peroxidase from *Arabidopsis thaliana*. Plant Physiol. 104: 285-286.

Wanapu, C. and Shinmyo, A. (1996). *cis*-Regulatory of the peroxidase gene in *Arabidopsis thaliana* involved in root specific expression and responsiveness to high-salt stress. Ann New York Acad Sci. 782 (12): 107-114.

Rodtong, S.; **Wanapu, C.** and Ishizaki, A. (2000). Starch-utilizing bacteria for L-lactic acid production. The 12th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology. 52.

Kanchanatawee, S., **Wanapu, C.** and Ketudat-Cairns, M. (2000). Biotechnology postgraduate program in Thailand. Thai J. Biotechnol. 2, 55-62.

Sripo, T., Phongdara, A., **Wanapu, C.** and Caplan, A.B. (2002). Screening and characterization of aldehyde dehydrogenase gene from *Halomonas salina* strain AS11. J. Biotech. 95, 171-179.

Kuapunyakoon, T. and **Wanapu, C.** (2003). Effects of diammonium phosphate (DAP) supplementation on growth rate and ethanol production of *Saccharomyces cereviseae* K1-V1116 in tamarind wine. Suranaree J. Sci. Technol. 10: 147-151.

Sripunya, P., **Wanapu, C.** and Boonkerd, N. (2005). Effect of ß-glucosidase enzyme in *Saccharomyces cerevisiae* on aroma production during mango (Chok-anan) wine fermentation. Thai J. Biotechnol. 6: 50-56.

Usansa, U., Sompong, N., **Wanapu, C.,** Boonkerd, N. and Teaumroong, N. (2009). The influences of steeping duration and temperature on the α- and ß- amylase activities of six Thai rice malt cultivars (*Oryza sativa* L. indica). J. Inst. Brew. 105 (2) 140-147.

Teaumroong, N., **Wanapu, C**., Chankum, Y., Arjharn, W., Sang-Arthit, S., Teaimthaisong, K. and Boonkerd, N. (2010). Production and application of bioorganic fertilizers for organic farming systems in Thailand: A case study. In: Insam, H. , Franke-Whittle, I. and Goberna, M. (eds). Microbs at work: from wastes to resources. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. 294-296.

Usansa, U., Burberg, F., Geiger, E., Back, W., **Wanapu, C.,** Arendt, E.K., Kreisz, S., Boonkerd, N., Teaumroong, N. and Zarnkow, M. (2011). Optimization of malting for two black rice varieties, black non-waxy rice and black waxy rice (*Oryza sativa* L. Indica). J. Inst. Brew. 117(1), 39–46.

Vechklang, K., Boonanuntanasarn, S. Ponchunchoovong, S., Pirarat N. and **Wanapu, C.** (2011). The potential for rice wine residual as an alternative protein source in a practical diet for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) at the juvenile stage. Aqua. Nut., 17(6), 685-694.

Li L., **Wanapu, C.**, Huang, X., Huang, T., Li, Q., Peng, Y. and Huang, G. (2011). Comparison of AFLP and SSR for Genetic Diversity Analysis of *Brassica napus* Hybrids. J Agri. Sc. 3(3), 101-110.

Boonterm, C., **Wanapu, C**., Silapapun, A. and Boonkerd, N. (2011). Effects of nitrogen, potassium fertilized, and clusters per vine on anthocyanins content in cabernet sauvignon wine. Suranaree J. Sci. Technol. 18(1), 41-54.

Li, L., Huang, X., **Wanapu, C**., Li, Q., Huang, G. and Huang, T. (2011). Genetic diversity analysis of 25 rapeseed varieties from Guizhou rapeseed regional test by SSR marker. Guizhou Agri. Sc. 11, 1-4 (in Chinese).

Wanapu, C., Sripunya, P. and Boonkerd, N. (2012). Selection of yeast strains □-glucosidase for improving wine aroma. J. Agri. Sc. Technol. B, 2, 691-702.

Kongkaew, A., Usansa, U. and **Wanapu, C.** (2012). Beer production from rice mait based in pilot-scale: volatile compounds and sensorial properties analysis. The Journal of King Mongkut's University of Technology. 3(1), 86-94.

Kongkaew, A., Usansa, U. and **Wanapu, C.** (2012). Optimisation of wort production from rice malt using enzymes and barley malt. Af. J. Biotech. 11(42), 9941-9949.

Vechklang, K., Lim, C., Boonanuntanasarn, S., Welker, T., Ponchunchuwong, S., Klesius, P.H. and **Wanapu, C.** (2012). Growth performance and resistance to Streptococcus iniae of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets supplemted with GroBiotic-A and Brewtech dried brewers yeast. J App. Aqua. 24, 183-198.

Patents:5 Thai patents and 3 Trade Secrets.

Current Research Works:

1. The Bioprocess Control of Microbial Alginates for Industrial Production.
2. Composition of Biopolymer and Filmogenics.
3. Improvement of Bioethanol Production by Using Thermotolerant Yeasts and Bioconversion.
4. Thai Rice Beer Production.

1. ชื่อ นาย ภคนิจ คุปพิทยานันท์

Mr. Pakanit Kupittayanant

2. เลขหมายประจำตัวประชาชน 3 3099 01175 08 1

3. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์

4. หน่วยงานที่สังกัด และที่อยู่

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

111 ถนนมหาวิทยาลัย 1 ต. สุรนารี อ. เมือง จ. นครราชสีมา 30000

โทรศัพท์ (044) 224378 โทรสาร (044) 224150

e-mail: pakanit@sut.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

ปีที่จบการศึกษา	ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญา	สาขาวิชา	ชื่อสถาบันศึกษา	ประเทศ
2538	ตรี	สพ.บ.	สัตวแพทยศาสตร์	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	ไทย
2543	โท	M.Res.	Physiology and Biotechnology	University of Manchester	England
2546	เอก	Ph.D.	Physiology	University of Manchester	England

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

-

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยและงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : -

7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย :

- ผลของการเสริม conjugated linoleic acid (CLA) ต่อค่าโลหิตวิทยา และชีวเคมีของโลหิตในไก่เนื้อ
- ผลของ antioxidants ต่อคุณภาพน้ำเชื้อสดในสุกร
- ผลของสารสกัดจากลูกยอต่อการรักษาโรคเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการในโคนม
- ผลของ conjugated linoleic acid (CLA) ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท
- โลหิตวิทยาและชีวเคมีของโลหิตของปลาฟลาวเวอร์ฮอร์น
- การป้องกันการเกิดโรคเต้านมอักเสบในโคดรายโดยไม่ใช้ยาปฏิชีวนะ

- ศึกษาระดับไอโซฟลาโวนในน้ำนมโค

7.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน (อาจมากกว่า 1 เรื่อง)

7.4 ผลงานการวิจัยที่ตีพิมพ์ (Full Papers & Abstracts)

- The Effects of Pomegranate Seed Extract and B-Sitosterol on Rat Uterine Contractions. Promprom W, **Kupittayanant P**, Indrapichate K, Wray S, Kupittayanant S. *Reprod Sci.* 2010 Mar;17(3):288-96.
- The roles of pH in regulation of uterine contraction in the laying hens. Kupittayanant S, **Kupittayanant P**. *Anim Reprod Sci.* 2010 Apr;118(2-4):317-23.
- Mechanisms of uterine contractility in laying hens. Kupittayanant S, **Kupittayanant P**, Suwannachat C. *Anim Reprod Sci*. 2009 Oct; 115(1-4): 215-224.
- Buddhakala, N., Khat-Bhet, N., Lijuan, W., Kupittayanant, S & **Kupittayanant, P**. (2008). Effects of noni fruit extract on intestinal contractility in rats. *Planta Med* 9 (74): 1178.
- **Kupittayanant P** (2007). Effect of conjugated linoleic acid (CLA) supplementation on improving immune response to Newcastle disease vaccination in broiler chickens. *Suranaree Journal of science and technology* Vol. 4 No.2, 173-184
- **Kupittayanant P**,Munglue P, Saraphat W, Danoopat T, Kupittayanant S (2007). Effects of ethanolic extract of Mucuna pruriens on sexual behavior of male rats. *Planta Medica*. 73, p1007
- **Kupittayanant P**, Trafford AW, Diaz ME and Eisner DA (2006). A mechanism distinct from the L-type current or Na-Ca exchange contributes to Ca entry in rat ventricular myocytes. *Cell Calcium*. 39, 417-423
- **Kupittayanant P** and Eisner DA (2006). The effects of extracellular adenosine 5' triphosphate (ATP) on intracellular calcium in rat ventricular myocytes. *การประชุมวิชาการสรีรวิทยาสมาคมแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 35*, p21

- **Kupittayanant P**, Chasombat J, Suksombat W, Kupittayanant S (2005). Effects of bypass fat supplementation on the oestrous cycle duration of early lactating cows. *AHAT-BSAS International Conference*. p 75
- **Kupittayanant P**, Trafford AW, Diaz ME, O'Neill SC and Eisner DA (2002). Effects of membrane potential on steady-state cardiac $[Ca^{2+}]_i$ in the absence of Na-Ca exchange. *European Journal of Physiology*. 433 (*Suppl*.), S346.
- **Kupittayanant P** (2000). The difference in angiotensin II AT_1 receptor density and/or affinity in the proximal tubule of spontaneously hypertensive and normotensive rats. *GSS University of Manchester*, Manchester, UK.
- จักรพันธ์ ชาสมบัติ และ **ภคนิจ คุปพิทยานันท์** (2549) ผลของการเสริม Conjugated linoleic acid (CLA) ต่อค่าโลหิตวิทยาในไก่เนื้อ. *The 4th PSU Symposium on Graduate Research,* p 20
- วันวิสาข์ ลิจ้วน กีรณา อยู่หัตถ์ กุณฑลี ร่างน้อย **ภคนิจ คุปพิทยานันท์** และ ศจีรา คุปพิทยานันท์ (2548). การศึกษาเปรียบเทียบผลของการเสริมกระชายดำในอาหารและการฉีดฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนต่อลักษณะเพศผู้ในไก่เนื้อ. *สมุนไพรไทย: โอกาสและทางเลือกใหม่ของอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ ครั้งที่ 3,* โรงพิมพ์เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด กรุงเทพมหานคร p 85-90

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาคผนวก

Table A. 7 Sperm temperature of boar fed experiment diet (mean ± SD, n=3).

Diet	Time (Day)					
	-7	**1**	**7**	**14**	**21**	**28**
1	32.83 ± 1.62 ^{A}	30.27 ± 1.47 ^{b,B}	33.07 ± 0.75 ^{A}	33.53 ± 0.78 ^{ab,A}	31.43 ± 0.45 ^{AB}	33.43 ± 1.15 ^{A}
2	32.97 ± 0.72 ^{AB}	33.60 ± 0.92 $^{a\ A}$.	34.03 ± 0.85 ^{A}	33.87 ± 0.76 ^{ab,A}	31.87 ± 0.71 ^{B}	33.20 ± 0.56 ^{AB}
3	31.70 ± 2.72 ^{AB}	30.20 ± 3.44 ^{b,B}	33.50 ± 0.50 ^{AB}	34.20 ± 0.98 ^{a,AB}	32.03 ± 0.90 ^{A}	34.63 ± 0.67 ^{A}
4	30.77 ± 3.20	32.63 ± 1.46 ^{ab}	33.93 ± 1.22	32.80 ± 0.75 ^{ab}	32.57 ± 1.40	33.53 ± 2.02
5	29.95 ± 0.07 ^{B}	34.90 ± 2.69 ^{a,A}	33.70 ± 0.28 ^{A}	33.15 ± 0.07 ^{ab,A}	32.35 ± 1.34 ^{AB}	34.15 ± 0.64 ^{A}
6	32.57 ± 0.21 ^{B}	32.83 ± 0.93 ^{ab,AB}	34.70 ± 0.20 ^{A}	34.47 ± 0.74 ^{a,AB}	32.57 ± 2.08 ^{B}	33.97 ± 1.08 ^{AB}
7	30.77 ± 2.35 ^{B}	32.57 ± 0.40 ^{ab,AB}	33.80 ± 1.40 ^{A}	33.87 ± 0.40 ^{ab,A}	33.80 ± 1.49 ^{A}	33.63 ± 1.56 ^{A}
8	31.80 ± 1.30	31.97 ± 1.10 ^{ab}	33.73 ± 2.46	32.07 ± 1.81 ^{b}	32.20 ± 1.64	34.03 ± 1.89

^{ab}Means with different superscript in each column differed significantly from each other (P<0.05)

^{AB} Means with different superscript in each low differed significantly from each other (P<0.05)

Table A. 8 Sperm pH of boar fed experiment diet (mean ± SD, n=3).

Diet	Time (Day)					
	-7	**1**	**7**	**14**	**21**	**28**
1	7.42 ± 0.24	7.38 ± 0.15	7.57 ± 0.09 ^{ab}	6.86 ± 0.04 ^{c}	7.05 ± 0.07 ^{b}	7.05 ± 0.18 ^{b}
2	7.41 ± 0.12 ^{A}	7.17 ± 0.07 ^{BC}	7.10 ± 0.14 ^{c,C}	7.19 ± 0.11 ^{b,BC}	7.29 ± 0.10 ^{ab,ABC}	7.37 ± 0.11 ^{ab,AB}
3	7.41 ± 0.07	7.33 ± 0.07	7.32 ± 0.04 ^{abc}	7.35 ± 0.08 ^{ab}	7.35 ± 0.08 ^{ab}	7.29 ± 0.12 ^{ab}
4	7.53 ± 0.22	7.34 ± 0.28	7.34 ± 0.34 ^{abc}	7.42 ± 0.29 ^{abc}	7.49 ± 0.21 ^{a}	7.36 ± 0.28 ^{a}
5	7.55 ± 0.06 ^{A}	7.37 ± 0.01 ^{C}	7.46 ± 0.02 ^{abc,B}	7.56 ± 0.00 ^{a,A}	7.50 ± 0.01 ^{a,AB}	7.51 ± 0.06 ^{a,AB}
6	7.37 ± 0.14	7.22 ± 0.11	7.21 ± 0.21 ^{bc}	7.22 ± 0.15 ^{b}	7.37 ± 0.22 ^{ab}	7.42 ± 0.23 ^{ab}
7	7.53 ± 0.14	7.30 ± 0.06	7.33 ± 0.17 ^{abc}	7.40 ± 0.18 ^{ab}	7.53 ± 0.26 ^{a}	7.51 ± 0.13 ^{a}
8	7.26 ± 0.24	7.23 ± 0.16	7.22 ± 0.14 ^{bc}	7.30 ± 0.20 ^{ab}	7.32 ± 0.18 ^{ab}	7.29 ± 0.25 ^{ab}

^{ab}Means with different superscript in each column differed significantly from each other (P<0.05)

^{AB} Means with different superscript in each low differed significantly from each other (P<0.05)