รหัสโครงการ SUT 3-303-52-12-18

รายงานการวิจัย

ผลของการเสริมกลูตามีนในอาหาร ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต การพัฒนาของระบบทางเดินอาหาร และการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของไก่เนื้อ

(The Effect of Glutamine Supplementation in Diets on Growth Performance, Gastrointestinal Tract Development and Immune Stimulation of Broilers)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT 3-303-52-12-18

รายงานการวิจัย

ผลของการเสริมกลูตามีนในอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต การพัฒนาของระบบทางเดินอาหาร และการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของไก่เนื้อ

(The Effect of Glutamine Supplementation in Diets on Growth Performance, Gastrointestinal Tract Development and Immune Stimulation of Broilers)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ดร. สุทิศา เข็มผะกา

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

ผู้ร่วมวิจัย

อ. ดร. วิทธวัช โมพี

ผศ. นสพ. ดร. ภคนิจ คุปพิทยานันท์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2552

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

กุมภาพันธ์ 2554

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2551 ขอขอบคุณฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่ได้ให้ความอนุเคราะห์สถานที่เพื่อใช้ในงานทดลอง ขอขอบคุณ คุณเฉลิมชัย หอมตา เจ้าหน้าที่ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่ได้อำนวยความสะดวกในระหว่างการทำงานทดลอง และสุดท้ายนี้ขอขอบคุณ คุณเอกพล พูนชัย ที่ได้ทำหน้าที่ผู้ช่วยวิจัยและจัดทำรายงานฉบับนี้ด้วย

สุทิศา เข็มผะกา

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อ

จากมาตรการยกเลิกการใช้ยาปฏิชีวนะเสริมในอาหารไก่เนื้อ เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตและควบคุมโรค ทำให้เกิดปัญหาหลายอย่างตามมา เช่น ไก่มีสมรรถนะการเจริญเติบโตลดลง และมีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อหรือเกิดโรคมากยิ่งขึ้น การเสริมกรดอะมิโนกลูตามีนเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ควรมีการศึกษาเพื่อนำมาใช้เสริมในอาหารไก่เนื้อ การศึกษาครั้งนี้ประกอบด้วยการทดลอง 2 งานทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ศึกษาหาระดับการเสริมกลูตามีนที่เหมาะสมในอาหารไก่เนื้อ และการทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการเสริมกลูตามีนที่ระยะเวลาต่างๆ ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต การพัฒนาการของระบบทางเดินอาหาร และการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกัน

การทดลองที่ 1 ใช้ไก่เนื้อเพศผู้อายุ 1 วัน น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 41.5 กรัม สุ่มไก่จำนวน 32 ตัวขึ้นกรง โดยแบ่งไก่ออกเป็น 4 กลุ่มๆ ละ 8 ซ้ำๆ ละ 1 ตัว ให้อาหารและน้ำแบบเต็มที่ มีระยะเวลาทดลอง 21 วัน อาหารทดลองมี 4 กลุ่ม คือ สูตรควบคุม และเสริมกลูตามีน 1, 2 และ 3% ตามลำดับ การทดลองที่ 2 ใช้ไก่เนื้อคละเพศ อายุ 1 วัน จำนวน 300 ตัว โดยแบ่งไก่ออกเป็น 5 กลุ่มๆ ละ 3 ซ้ำๆ ละ 20 ตัว แต่ละซ้ำเลี้ยงในคอกแบบปล่อยพื้น อาหารทดลองประกอบด้วย อาหารสูตรควบคุม และอาหารเสริมกลูตามีนที่ระดับ 1% โดยเสริมเป็นระยะเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน ทำการเลี้ยงไก่ทั้งหมดเป็นระยะเวลา 42 วัน

ผลการทดลอง พบว่าการเสริมกลูตามีนที่ระดับ 1% มีประสิทธิภาพสูงสุด (การทดลองที่ 1) โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการย่อยได้ของวัตถุแห้ง สารอินทรีย์ เถ้า และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ อย่างไรก็ตามเมื่อนำกลูตามีนที่ระดับ 1% ไปขยายผลเพื่อศึกษาหาระยะเวลาการเสริมที่เหมาะสม (การทดลองที่ 2) พบว่าการเสริมกลูตามีนให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในเกือบทุกพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา คือ สมรรถนะการเจริญเติบโต การสร้างภูมิคุ้มกันทั้งในซีรัมและลำไส้เล็ก และน้ำหนักของอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการย่อยอาหารและการสร้างภูมิคุ้มกัน อย่างไรก็ตามในส่วนของลักษณะทางจุลกายวิภาคของลำไส้เล็ก พบว่าการเสริมกลูตามีนสามารถเพิ่มความกว้างของวิลไลในลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัมสูงกว่ากลุ่มควบคุม

จากการศึกษาดังกล่าวข้างต้น พบว่าการเสริมกลูตามีนที่ระดับ 1% มีประสิทธิภาพสูงสุด โดยช่วงเวลาที่ได้เปรียบที่สุดในการเสริมกลูตามีนในอาหารลูกไก่ คือ ช่วงอายุ 0-14 วัน นอกเหนือไปจากช่วงเวลาดังกล่าวการเสริมกลูตามีนในอาหารมีผลน้อยมากหรือไม่มีผลเลย ทั้งนี้เนื่องมาจากระยะดังกล่าวไก่ยังมีการพัฒนาระบบต่างๆ ของร่างกายไม่สมบูรณ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งระบบการย่อยอาหารและระบบการสร้างภูมิคุ้มกัน ทำให้ลูกไก่มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรค หรือมีแนวโน้มที่จะได้รับผลกระทบเชิงลบจากสภาพแวดล้อมได้ไวมากที่สุด

ABSTRACT

Due to the ban on the use of antibiotics as growth promoters and disease controllers in poultry feed, there have been numerous problems leading to depressed growth performance and to an increased incidence of disease. The supplementation of glutamine as an alternative feed additive should be studied in broiler diets. This study composes 2 experiments: experiment 1 was conducted to investigate the optimum levels of glutamine supplementation in broiler diets and experiment 2 was conducted to evaluate the effect of glutamine supplementation at various stages of growth performance, gastrointestinal tract development, and immune response of broilers.

In experiment 1, a total of 32 one-day, male chicks with an initial average body weight of 41.5 g were allotted into 4 groups (8 chicks per each) and subsequently distributed to individual cages. Feed and water were provided *ad libitum* through 21 days of age. Four dietary treatments were as follows: control and supplemented Gln at 1, 2 and 3%, respectively. In experiment 2, 300 one-day, mixed sex chicks were randomly divided into 5 treatments of 3 replicates of 20 birds each. The treatment groups were comprised of control and supplemented 1% Gln fed broilers for 7, 14, 21 and 28 days of age. The birds were raised for 42 days.

The results showed that the addition of Gln at 1% provided the highest efficacy (experiment 1) without any negative effects on dry matter, organic matter and ash digestibility and nitrogen retention. However, when Gln at a level of 1% was provided to determine the optimum supplementation period in diets (experiment 2), no significant benefits were found in most parameters studied: growth performance, serum and small intestine immunoglobulin and the digestive and immune organs' relative weights. However, chicks fed with 1% Gln for 7 and 14 days had significantly higher villi wide in duodenum than the control.

From the above studies it was concluded that the addition of Gln at 1% showed the highest efficacy. The most advantageous time to add Gln to the diet of newborn chicks is from age 0 to 14 days. Beyond that age the addition of Gln to the diet has little to no affect. The reason for this is because most of their systems, especially the digestive and immune systems, are not fully developed and the chicks are more vulnerable to disease or likely to be negatively impacted by their environment.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	
ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
ขอบเขตของการวิจัย	2
ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย	2
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	3
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	15
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	
ผลการศึกษา	24
ผลการวิจารณ์	35
บทที่ 5 บทสรุป	
สรุปผลการวิจัย	38
ข้อเสนอแนะ	38
บรรณานุกรม	39
ภาคผนวก	43
ประวัติผู้วิจัย	47

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 แสดงหน้าที่ของกลูตามีนต่อการทำงานของเซลล์ และภูมิคุ้มกันในร่างกาย……. 8
ตารางที่ 2.2 ผลของการเสริมกลูตามีนต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ..……..... 10
ตารางที่ 2.3 ผลของการเสริมกลูตามีนต่อความยาววิลไลในลำไส้เล็กของไก่เนื้อ..... 13
ตารางที่ 2.4 ผลของการเสริมกลูตามีนต่อการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกัน..... 14
ตารางที่ 3.1 ส่วนประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง (การทดลองที่ 1)..... 16
ตารางที่ 3.2 ส่วนประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง (การทดลองที่ 2)..... 23
ตารางที่ 4.1 ผลของกลูตามีนต่อการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในไก่เนื้อ (การทดลองที่ 1)……..... 25
ตารางที่ 4.2 ผลของกลูตามีนต่อน้ำหนักอวัยวะของไก่เนื้อ (g/100g BW) (การทดลองที่ 1)..... 25
ตารางที่ 4.3 ผลของกลูตามีนต่อลักษณะทางจุลกายวิภาคในลำไส้เล็กของไก่เนื้อ (การทดลองที่ 1)..... 27
ตารางที่ 4.4 ผลของกลูตามีนต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ (การทดลองที่ 2)..... 29
ตารางที่ 4.5 ผลของกลูตามีนต่อน้ำหนักเบอร์ซาร์และม้าม (การทดลองที่ 2)..... 30
ตารางที่ 4.6 ผลของกลูตามีนต่อลักษณะทางจุลกายวิภาคในลำไส้เล็กของไก่เนื้ออายุ 0-42 วัน (การทดลองที่ 2)..... 32
ตารางที่ 4.7 ผลของกลูตามีนต่อการกระตุ้นการตอบสนองของอิมมูโนโกลบูลินของไก่เนื้ออายุ 0-42 วัน (การทดลองที่ 2)..... 34

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 2.1 แสดงโครงสร้างของกลูตามีน……..... 3
ภาพที่ 2.2 แสดงวิถีการสังเคราะห์กรดอะมิโนกลูตามีน…….. 4
ภาพที่ 2.3 แสดงวิถีเมแทบอลิซึมของกลูตามีนในร่างกาย …….. 5
ภาพที่ 2.4 แสดงวิถีการขนส่งกลูตามีนในร่างกาย……... 6
ภาพที่ 2.5 แสดงโครงสร้างของผนังลำไส้เล็ก……. 11

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

อุตสาหกรรมการผลิตไก่เนื้อของประเทศไทย มีการขยายตัวในอัตราที่สูงเมื่อเทียบกับการผลิตสัตว์ชนิดอื่น มีการพัฒนาและนำเทคโนโลยีต่างๆ มากมายเข้ามาใช้เพื่อเพิ่มสมรรถนะการผลิตให้สูงขึ้น ร่นระยะเวลาการเลี้ยงให้สั้นลง และสามารถเลี้ยงได้ในอัตราที่หนาแน่นยิ่งขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม จากมาตรการยกเลิกการใช้ยาปฏิชีวนะเสริมในอาหารไก่ เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตและควบคุมโรค ทำให้เกิดปัญหาหลายอย่างตามมา เช่น ไก่มีสมรรถนะการเจริญเติบโตลดลง และมีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อหรือเกิดโรคมากยิ่งขึ้น นักวิจัยและผู้ที่เกี่ยวข้องได้พยายามแก้ไขปัญหาเพื่อลดความสูญเสียดังกล่าว โดยได้ศึกษาและทดสอบใช้สารหลายชนิดเพื่อนำมาทดแทนยาปฏิชีวนะ เช่น การใช้สารเสริมชีวนะ (Probiotics) อาหารเสริมชีวนะ (Prebiotics) กรดอินทรีย์ (Organic acids) สมุนไพร (Herbs) และเอ็นไซม์ชนิดต่างๆ การเสริมกรดอะมิโนกลูตามีนอาจเป็นทางเลือกหนึ่งที่ควรมีการศึกษาเพื่อนำมาใช้เสริมในอาหารไก่เนื้อ เพราะได้มีการรายงานถึงบทบาทของกลูตามีนในการพัฒนาเซลล์ในระบบทางเดินอาหาร การกระตุ้นภูมิคุ้มกัน และการกระตุ้นการสร้างฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโต (Tapiero et al., 2002; Alpers, 2006; Bartell and Batal, 2007; Fischer da Silva et al., 2007)

กลูตามีนเป็นกรดอะมิโนอิสระที่พบมากที่สุดในพลาสมาและกล้ามเนื้อ เป็นสารตั้งต้นสำหรับสังเคราะห์สารประกอบต่างๆ ที่สำคัญ เช่น กรดอะมิโน นิวคลีโอไทด์ กรดนิวคลีอิก โปรตีน และสารอื่นๆ อีกที่มีความสำคัญสำหรับสิ่งมีชีวิต (Wu et al., 1991) จากการศึกษาการใช้กลูตามีนในมนุษย์ พบว่ากลูตามีนมีประสิทธิภาพในการช่วยลดการเกิดโรค โดยเฉพาะโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหาร และโรคที่เกิดขึ้นจากความเครียด อีกทั้งจากบทบาทของกลูตามีนในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการทำหน้าที่ขนส่งไนโตรเจนระหว่างเซลล์ และช่วยในการสังเคราะห์โปรตีนของกล้ามเนื้อ ทำให้มีการใช้ กลูตามีนกับนักกีฬาเพาะกายเพื่อช่วยในการสร้างกล้ามเนื้อ โดย Alpers (2006) ได้สรุปบทบาทและความสำคัญของกลูตามีนออกเป็น 4 ประเด็นด้วยกัน คือ (1) กลูตามีนเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญของเซลล์เอ็นเทอโรไซต์ (Enterocyte) และเซลล์ภูมิคุ้มกัน (Immune cell) โดยไม่สามารถทดแทนได้ด้วยกรดอะมิโนชนิดอื่น (2) กลูตามีนมีบทบาทสำคัญในการลดความเครียด (3) กลูตามีนเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญสำหรับเนื้อเยื่อ และ (4) การขาดกลูตามีนมีผลให้เซลล์เยื่อบุทางเดินอาหารของลำไส้เล็กชะงักการเจริญเติบโตและแคะเกร็น การเสริมกลูตามีนในอาหารไก่เนื้อเป็นประเด็นที่สนใจ เนื่องจากบทบาทต่างๆ ในหลายแง่มุมของกลูตามีนน่าจะสามารถ

แก้ไขปัญหาจากมาตรการยกเลิกการใช้ยาปฏิชีวนะได้ เพราะหากสัตว์ที่เลี้ยงมีพัฒนาการของเซลล์ในระบบทางเดินอาหาร และการสร้างภูมิคุ้มกันเร็ว ก็จะทำให้ได้สัตว์ที่แข็งแรง มีประสิทธิภาพในการใช้อาหารสูง และมีสมรรถนะการเจริญเติบโตดี (Izat et al., 1989; Nitsan et al., 1991; Bartell and Batal, 2007)

ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาการเสริมกลูตามีนในอาหารไก่เนื้อ โดยศึกษาเพื่อหาระดับและระยะเวลาของการเสริมที่เหมาะสม โดยดูผลจากสมรรถนะการเจริญเติบโต การพัฒนาของเซลล์ในระบบทางเดินอาหาร และการสร้างภูมิคุ้มกัน

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อหาระดับและระยะเวลาที่เหมาะสมของการเสริมกลูตามีนในอาหารไก่เนื้อ
2. เพื่อศึกษาผลของการเสริมกลูตามีนในอาหาร ต่อการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ สมรรถนะการเจริญเติบโต การพัฒนาของเซลล์ในระบบเดินอาหาร และการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันของไก่เนื้อ

ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยนี้มุ่งเน้นที่จะศึกษาผลของการเสริมกลูตามีนในอาหารไก่เนื้อ ต่อการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ สมรรถนะการเจริญเติบโต การพัฒนาของเซลล์ในระบบทางเดินอาหาร และการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันของไก่เนื้อ โดยทำการคัดเลือกระดับและระยะเวลาการเสริมกลูตามีนที่เหมาะสมที่ก่อให้เกิดประโยชน์แก่ไก่เนื้อมากที่สุด

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

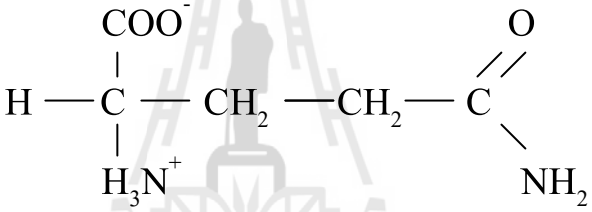
1. ทราบระดับและระยะเวลาที่เหมาะสมในการเสริมกลูตามีนในอาหารไก่เนื้อ
2. ทราบผลของการเสริมกลูตามีนในอาหาร ต่อการย่อยได้ และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ สมรรถนะการเจริญเติบโต การพัฒนาของเซลล์ในระบบทางเดินอาหาร และการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันของไก่เนื้อ
3. ได้แนวทางการแก้ไขปัญหาจากมาตรการยกเลิกการใช้ยาปฏิชีวนะเพิ่มขึ้นอีกแนวทางหนึ่ง

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 กลูตามีน (Glutamine)

กลูตามีนเป็นกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น (Non-essential amino acid) ประกอบด้วยหมู่คาร์บอกซิลิก (Carboxylic group, -COOH) หมู่อะมิโน (Amino group, NH_2) อะตอมไฮโดรเจน และหมู่ R (Side chain) ต่ออยู่กับอะตอมของคาร์บอนที่ตำแหน่งแอลฟา (α-carbon) มีสูตรโครงสร้างทางเคมีดังแสดงในภาพที่ 2.1 กลูตามีนเป็นกรดอะมิโนอิสระที่มีอยู่ทั่วไปในน้ำเลือดของสัตว์พบประมาณ 30-35% ของกรดอะมิโนทั้งหมดในพลาสมา (พัชรีและคณะ, 2551; Bartell and Batal, 2007)



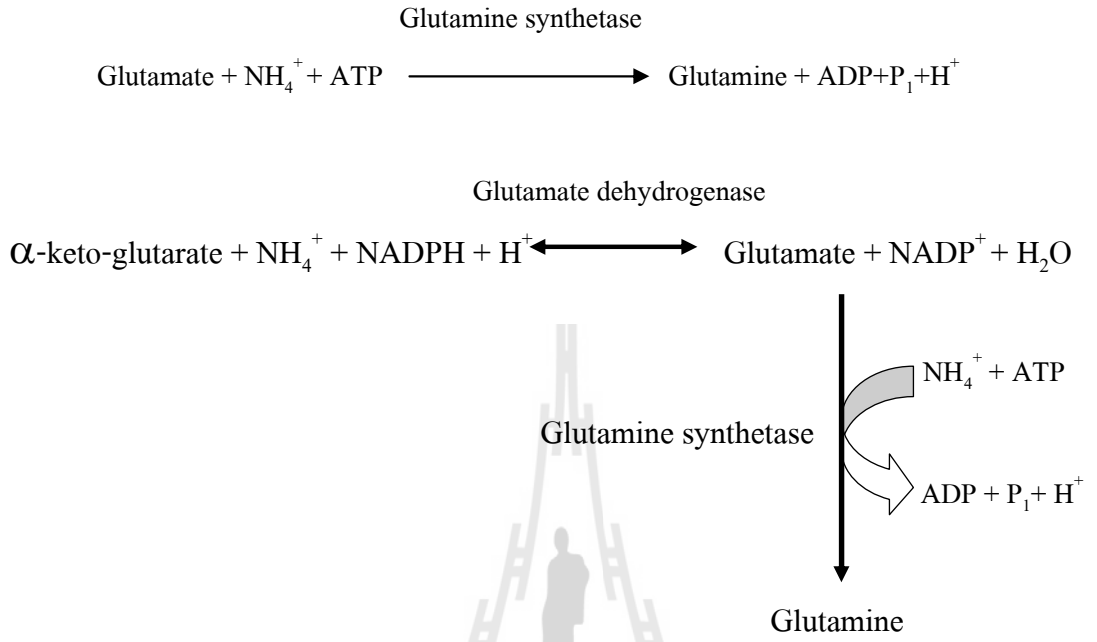
ภาพที่ 2.1 แสดงโครงสร้างของกลูตามีน (พัชรี และคณะ, 2551)

กรดอะมิโนกลูตามีน มีวิถีการสังเคราะห์ที่คล้ายกับการสังเคราะห์กลูตาเมท (Glutamate) และโพรลีน (Proline) โดยจะใช้โครงคาร์บอนจากสารตั้งต้นที่มีโครงสร้างคล้ายแอลฟาคีโตแอซิดของกรดอะมิโน ซึ่งเป็นสารกึ่งกลางในวัฏจักรเครบส์หรือไกลโคไลซิส จากนั้นจะมีการเติมหมู่อะมิโนเข้าไปได้ผลผลิตเป็นกรดอะมิโน โดยอาศัยเอนไซม์ที่ต้องการไพริด็อกซัลฟอสเฟตเป็นโคเอนไซม์ ซึ่งกลูตาเมทจะถูกสังเคราะห์จากสารแอลฟาคีโตแอซิด กลูตาเรท และแอมโมเนีย โดยการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์กลูตาเมทไฮโดรจีเนสซึ่งอยู่ในเมทริกซ์ของไมโตคอนเดรีย

$$NH_4^+ + \alpha\text{ - Ketoglutarate} + NADPH \xrightarrow{\text{Glutamate dehydrogenase}} \text{Glutamate} + NADP^+ + H_2O$$

ปฏิกิริยาข้างต้นนี้เป็นปฏิกริยาที่สำคัญและเป็นพื้นฐานในการสังเคราะห์กรดอะมิโนทุกชนิด เพราะกลูตาเมทที่ได้จะทำหน้าที่เป็นตัวให้หมู่อะมิโนในกระบวนการสังเคราะห์

กรดอะมิโนชนิดอื่น โดยใช้ปฏิกิริยาการเคลื่อนย้ายหมู่อะมิโน (พัชรี และคณะ, 2551) กลูตามีนสังเคราะห์จากกลูตาเมท โดยเอ็นไซม์กลูตามีนซินทีเทส (Glutamine synthetase)

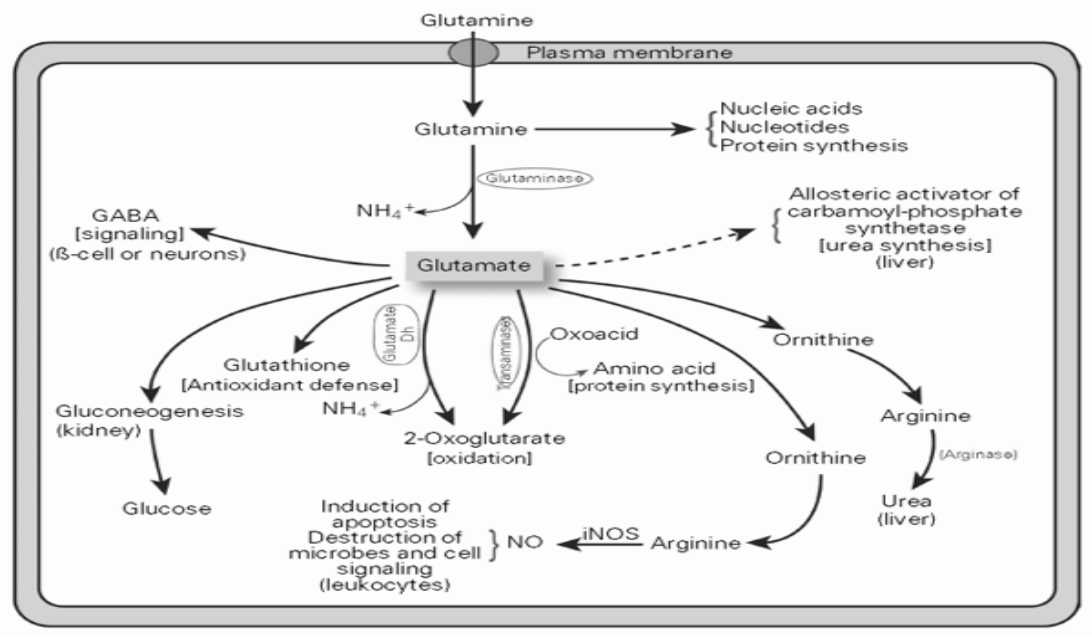


ภาพที่ 2.2 แสดงวิถีการสังเคราะห์กรดอะมิโนกลูตามีน (Morse, 1999)

2.1.1 กระบวนการเมแทบอลิซึมของกลูตามีน

โดยทั่วไปในเซลล์สิ่งมีชีวิตสามารถสังเคราะห์กลูตามีนได้จากกลูตาเมทในกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกาย เพื่อให้ได้กลูตามีนจะต้องอาศัยการทำงานของเอ็นไซม์กลูตามีนซินทีเทสในการเร่งปฏิกิริยาจากกลูตาเมทและแอมโมเนีย ซึ่งภายในไมโตคอนเดรียกลูตามีนจะถูกกระตุ้นโดยเอ็นไซม์กลูตามิเนส (Glutaminase) ให้เปลี่ยนกลูตาเมทและแอมโมเนียเพื่อใช้ในกระบวนการต่างๆ ดังแสดงในภาพที่ 2.3 โดยจะเกิดขึ้นมากที่สุดในกล้ามเนื้อ ซึ่งเป็นอวัยวะสำคัญในการสังเคราะห์กลูตามีน และอวัยวะที่ใช้ประโยชน์จากกลูตามีนมากที่สุด คือลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม (Miller, 1999) กลูตามีนพบปริมาณมากในกล้ามเนื้อ ตับ สมอง และเยื่อบุกระเพาะอาหาร โดยพบในเซลล์กล้ามเนื้อปริมาณสูงถึง 60% ของปริมาณกลูตามีนที่พบในร่างกาย ในเวลาที่ร่างกายได้รับความเครียดจากการเผาผลาญพลังงาน กลูตามีนจะถูกปลดปล่อยให้มีการหมุนเวียนในเนื้อเยื่อเพื่อปรับตัวให้ร่างกายมีการตอบสนองต่อความเครียดให้ดีขึ้น (Miller, 1999) การออกซิไดซ์คาร์บอนของกลูตามีนจะเกิดขึ้นในวัฏจักรของไตรคาร์บอกซิลิก (Tricarboxylic acid) ผลผลิตสุดท้าย

ที่ได้ คือ อะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (Adenosine triphosphate; ATP) โดยกลูตามีนจะถูกเปลี่ยนไปเป็นกลูตาเมท อะลานีน ซิตรูลีน และโพรลีน (Sornsuvit, 2007)

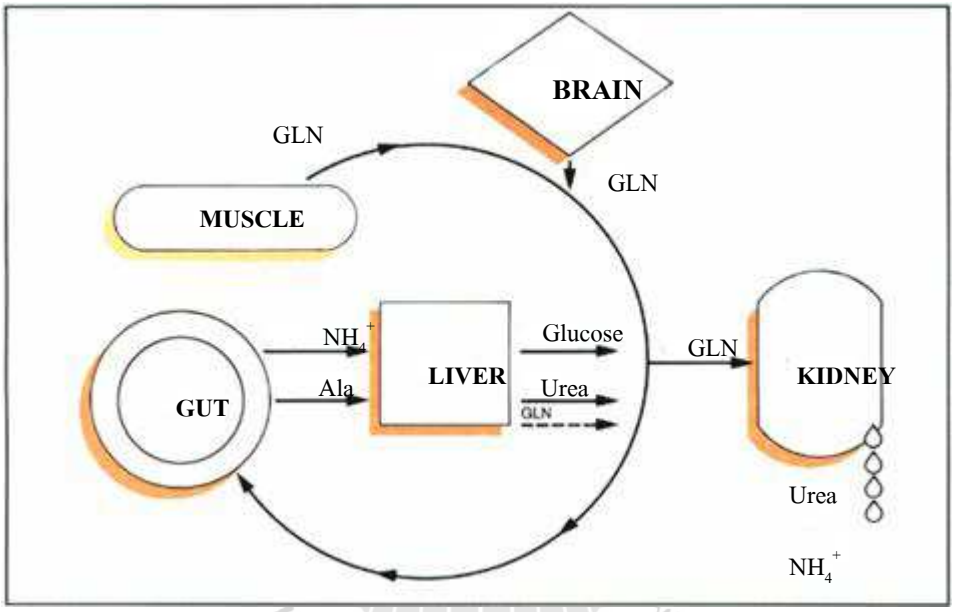


ภาพที่ 2.3 แสดงวิถีเมแทบอลิซึมของกลูตามีนในร่างกาย (Sornsuvit, 2007)

2.1.2 หน้าที่และประโยชน์ของกลูตามีนในร่างกาย

กลูตามีนเป็นกรดอะมิโนอิสระที่มีอยู่ทั่วไปในน้ำเลือดของสัตว์ มีความสามารถในการทำงานโดยการเคลื่อนย้ายแลกเปลี่ยนไนโตรเจนในเนื้อเยื่อ และมีบทบาทสำคัญในกระบวนการเมแทบอลิซึม ซึ่งวิถีการขนส่งกลูตามีนในร่างกายได้แสดงไว้ในภาพที่ 2.4 กลูตามีนประกอบด้วยแอมโมเนีย 2 กลุ่ม กลุ่มแรกได้จากสารตั้งต้นกลูตาเมท และอีกกลุ่มมาจากแอมโมเนียอิสระในกระแสเลือด กลูตามีนมีหน้าที่คล้ายกับไนโตรเจนชัตเทิล (Nitrogen shuttle) ซึ่งทำหน้าที่ในการปกป้องร่างกายจากระดับแอมโมเนียที่สูงเกินไป นอกจากนี้ยังเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์โปรตีน พิวรีน ไพริมิดีน นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ (Nicotinamide adenine dinucleotide; NAD^+) และนิวคลีโอไทด์ โดยทั่วไปแล้วลำไส้เล็กเป็นอวัยวะหลักของสัตว์ที่ใช้ประโยชน์จากกลูตามีน โดยจะมีการดูดซึมที่ลำไส้เล็ก และเปลี่ยนกลูตามีนกลายเป็นซิทรูลีน (Citruline) เพื่อใช้ในการสังเคราะห์อาร์จินีน นอกจากนั้นยังเป็นกรดอะมิโนตัวหนึ่งที่มีความสำคัญต่อร่างกายในกรณีได้รับความเครียดจากกระบวนการเมแทบอลิซึม การบาดเจ็บ การติดเชื้อในร่างกาย การควบคุมสมดุลกรด-ด่าง ควบคุมการขับกรดในไต ป้องกันการเกิดภาวะที่กระเพาะมีสภาพเป็นกรด และป้องกันร่างกายจากการเกิดสารพิษ กลูตามีนเป็นกรดอะมิโนกลุ่มที่ไม่จำเป็นแต่มี

ความสำคัญเป็นอย่างมาก ส่วนใหญ่จะถูกสังเคราะห์และเก็บไว้ในกล้ามเนื้อลายซึ่งมีส่วนสำคัญในการสร้างพลังงาน จำเป็นในการผลิตกลูโคส ไกลโคเจนและยังสามารถเป็นแหล่งพลังงานของเอนเทอร์โรไซท์และลิมโฟไซท์ ซึ่งเปรียบเสมือนเป็นสารอาหารของระบบภูมิคุ้มกัน (Yi et al., 2005; Bartell and Batal, 2007) นอกจากนี้กลูตามีนยังเป็นสารตั้งต้นในการให้อะตอมของไนโตรเจนเพื่อใช้ในการสังเคราะห์กลูตามีนเอง และมีบทบาทสำคัญในการควบคุมความสมดุลกรด-ด่าง การเกิดแอมโมเนียระดับสูงที่ไต มีส่วนสำคัญในการสังเคราะห์โปรตีน ลดการเสื่อมสภาพของโปรตีนในกล้ามเนื้อโดยการกระตุ้นการสังเคราะห์ของไกลโคเจน (Sornsuvit, 2007)



ภาพที่ 2.4 แสดงวิถีการขนส่งกลูตามีนในร่างกาย (Dharmananda, 2008)

มีงานวิจัยแสดงให้เห็นว่ากรดอะมิโนในอาหาร สามารถลดการเสื่อมสภาพของเซลล์ในลำไส้ได้ โดยเฉพาะกลูตามีนสามารถใช้ประโยชน์ในการเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญของเนื้อเยื่อในลำไส้ และมีประโยชน์ในการกระตุ้นให้เกิดการเพิ่มจำนวนของเซลล์ โดยจะไปส่งเสริมกิจกรรมการทำงานของเอ็นไซม์ออนิทีนดีคาร์บอกซิเลส (Ornithine decarboxylase) มีผลในการส่งเสริมพื้นที่การดูดซึมของเนื้อเยื่อในลำไส้ และยังเป็นสารตั้งต้นในการสร้างโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบของเยื่อหุ้มอวัยวะ เช่น ทูเมอร์เนโครซีสแฟคเตอร์ (Tumor necrosis factor) และอินเตอร์ลิวคินชนิดที่ 1 (Interleukin-1) นอกจากนั้นกลูตามีนยังจำเป็นในการสร้างฟอสโฟไลปิดเพื่อให้เยื่อหุ้มเซลล์มีความแข็งแรง และทนต่อการถูกพิโนไซโตซิส (Pinocytosis) หรือฟาโกไซโตซิส (Phagocytosis) ตามปกติลิมโฟไซท์ และแมคโครฟาจต้องการกลูตามีนเพื่อเป็นสารอาหาร โดยกลูตามีนมีผลในการกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์ลิมโฟไซท์ และทำให้อัตราส่วนของ CD4/CD8

เพิ่มขึ้นสำหรับการสร้างภูมิต้านทานของลำไส้ ซึ่งขึ้นอยู่กับความปกติของเยื่อบุลำไส้ที่ทำหน้าที่ป้องกันเชื้อโรค ซึ่งต้องอาศัยการทำหน้าที่ของทีเซลล์ซีครีทอรีอิมมูโนโกลบูลินชนิดเอ (T-cell secretory IgA) และแมคโครฟาจ (Kandil et al., 1995; Reeds and Burrin, 2001)

จากทดลองเสริมกลูตามีนในอาหารหนู พบว่ากลูตามีนมีบทบาทสัมพันธ์กับการทำงานของเซลล์ต่างๆ ในลำไส้เล็ก โดยสามารถเพิ่มการแลกเปลี่ยนโซเดียมไอออนและไฮโดรเจนไอออนที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ และเพิ่มการทำงานของออนิทีนดีคาร์บอกซิเลส นอกจากนั้นยังสามารถยกระดับการถอดรหัสทางพันธุกรรม โดยไปเพิ่มการทำงานของโปรตีนไคเนส (Protein kinase) ซึ่งเป็นตัวกระตุ้นกระบวนการไมโตจีเนซิส (Mitogenesis) อีกทั้งยังมีผลต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์เอนเทอโรไซท์ในลำไส้และเซลล์ภูมิคุ้มกัน เช่น ลิมโฟไซท์ (Lymphocyte) นิวโทรฟิล (Nutrophil) การเพิ่มจำนวนของทีลิมโฟไซท์ (T-lymphocyte) และบีลิมโฟไซท์ (B-lymphocyte) และการแบ่งเซลล์ของแมคโครฟาจ นอกจากนั้นเซลล์สิ่งมีชีวิตยังต้องการกลูตามีนในการเป็นสารตั้งต้นของกรดนิวคลีโอไทด์ ซึ่งหน้าที่ของกลูตามีนได้แสดงไว้ในตารางที่ 2.1 และยังพบว่าในระบบทางเดินอาหารจะมีการใช้ประโยชน์จากกลูตามีนในปริมาณมากเมื่อเทียบกับอวัยวะส่วนอื่นๆ ในร่างกาย (Calder and Yaqoob, 1999; Miller, 1999)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 2.1 แสดงหน้าที่ของกลูตามีนต่อการทำงานของเซลล์ และภูมิคุ้มกันในร่างกาย

Regulation of cell functions
Precursor of purine and pyrimidine
Precursor of glutathione
Interferes with L-arginine and oxide metabolism
Regulates cell size by osmosignaling
Stimulates Hsp formation
Stimulates AMP-activated protein kinase pathway
Regulation of lymphocyte function
Stimulates Con-A- and PHA-induced proliferation
Activates the expression of CD25, CD71, CD45RO
Stimulates interferon α secretion
Stimulates lymphokine-activated killer-cells
Inhibits apoptosis
Stimulates intestinal immunity (GALT)
Increases proportion of natural killer cells in spleen
Regulation of monocyte function
Stimulates RNA synthesis
Increases IL-1 secretion
Stimulates phagocytosis of opsonized *E. coli* and oxidized erythrocytes
Stimulates antigen presentation
Increases expression of surface antigens
Influences differentiation
Improves antioxidant defenses

ที่มา: Roth (2008)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2.2 การเสริมกลูตามีนในอาหารไก่เนื้อ

กลูตามีนเป็นกรดอะมิโนที่มีบทบาทสำคัญหลายด้าน โดยเฉพาะอย่างยิ่งบทบาทในแง่ของการพัฒนาเซลล์ในระบบทางเดินอาหาร การกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน และสมรรถนะการเจริญเติบโต แต่ยังมีงานวิจัยส่วนน้อยที่ทดสอบเสริมกลูตามีนในอาหารสุกรและสัตว์ปีก อีกทั้งผลการทดลองที่ได้ยังมีข้อแย้งกันหลายประเด็น เช่น บางรายงานพบว่าการเสริมกลูตามีนสามารถเพิ่มการพัฒนาของเซลล์ต่างๆ ในระบบทางเดินอาหารแต่ไม่มีผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่ (Bartell and Batal, 2007; Fischer da Silva et al., 2007; Sakamoto et al., 2007) แต่บางรายงานพบว่ากลูตามีนสามารถเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตได้ (Yi et al., 2005) ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากความแตกต่างในส่วนของระดับกลูตามีนที่เสริม ระยะเวลาที่เสริม และระยะเวลาที่ทดลองซึ่งส่วนมากสิ้นสุดการทดลองที่ไก่อายุ 21 วัน ซึ่งอาจไม่สามารถบ่งบอกผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตได้ดีเท่าที่ควร

2.2.1 ผลของการเสริมกลูตามีนต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ

จากการรวบรวมเอกสารผลของการเสริมกลูตามีน ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อซึ่งได้แสดงไว้ในตารางที่ 2.2 พบว่าการเสริมกลูตามีนในอาหารที่ระดับ 1% สามารถเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารในไก่เนื้อได้ (Soltan, 2009; Yi et al., 2005) อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างดังกล่าวในบางงานทดลอง (Murakami et al., 2007; Bartell and Batal, 2007; Maiorka et al., 2000) นอกจากนี้การเสริมกลูตามีนในระดับที่สูงขึ้น คือ 4% พบว่าส่งผลกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโต (Bartell and Batal, 2007) ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าการได้รับกลูตามีนในระดับที่สูงเกินไปมีผลทำให้เกิดพิษจากกระบวนการเมแทบอลิซึมได้ สำหรับงานทดลองที่ศึกษาวิจัยการเสริมกลูตามีนในสัตว์ชนิดอื่น เช่น ไก่งวงและสุกร พบว่ากลูตามีนสามารถเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต และเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหารของไก่งวงในช่วงสัปดาห์แรก (Yi et al., 2001) และเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหารในลูกสุกรหย่านมได้ (Kitt et al., 2002) อีกทั้งกลูตามีนยังสามารถเพิ่มความสูงของวิลไลในสัตว์ปีก (Yi et al., 2001) และลูกสุกรหย่านม (Kitt et al., 2002) รวมถึงการเพิ่มจำนวนเซลล์ของชั้นเยื่อเมือกที่ลำไส้เล็ก และป้องกันการเข้าทำลายแบคทีเรียที่ผนังลำไส้ได้ดี โดยเฉพาะในช่วงที่สัตว์เกิดความเครียดซึ่งเป็นการง่ายต่อแบคทีเรียที่จะเข้าทำลายผนังเซลล์ ผ่านเข้าสู่กระแสเลือด และมีการติดเชื้อเกิดขึ้น (Johnson et al., 2006) ซึ่งการใช้กลูตามีนในอาหารไก่เนื้อพบว่าโดยส่วนใหญ่มีการเสริมกลูตามีนร่วมกับสารอื่น เช่น ไวตามินอี (Sakamoto et al., 2007) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของกลูตามีนให้สูงขึ้น

ตารางที่ 2.2 ผลของการเสริมกลูตามีนต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ

Reference	Age (days)	Level	Weight gain (g)	FCR
Soltan (2009)	0-42	Control	2,099[b]	1.85
		0.5%	2,162[b]	1.82
		1.0%	2,273[a]	1.75
		1.5%	2,082[b]	1.83
		2.0%	2,054[b]	1.83
Bartell and Batal (2007)	0-21	Control	706[ab]	0.59
		1%	771[a]	0.61
		4%	634[b]	0.58
Bartell and Batal (2007)	0-21	Control	739[b]	0.63
		1% Gln for 4 d	742[b]	0.63
		1% Gln for 7 d	775[ab]	0.65
		1% Gln for 14 d	791[a]	0.67
		1% Gln for 21 d	805[a]	0.65
Maiorka et al. (2000)	0-28	Control	1,069	1.42
		1%	1,089	1.41
Murakami et al. (2007)	0-21	Control	832	1.37
		1% (1-7 d)	843	1.37
		1% (1-14 d)	824	1.39
Yi et al. (2005)	0-28	Control	1,041[c]	1.58[bc]
		1%	1,156[b]	1.61[c]
		1% + vaccination	1,249[a]	1.55[a]

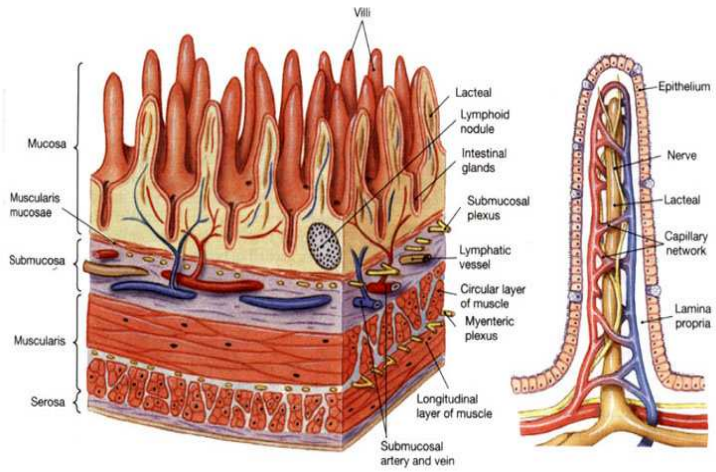
[a-c] Means with different superscripts in a column in each references are significantly different ($P<0.05$)

2.2.2 ผลของการเสริมกลูตามีนต่อการพัฒนาระบบทางเดินอาหารของไก่เนื้อ

โครงสร้างของลำไส้เล็กประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 4 ชั้น ได้แก่ ชั้นเยื่อหุ้มทางเดินอาหาร (Serosa) เป็นชั้นเยื่อเมือกที่อยู่ภายนอกสุดมีหน้าที่ปกคลุมลำไส้เอาไว้ ชั้นกล้ามเนื้อเรียบ (Muscuraris) ประกอบด้วย 2 ชั้น คือ ชั้นนอกเป็นชั้นที่กล้ามเนื้อเรียงตัวตามแนวยาวของลำไส้ และชั้นในเป็นชั้นที่กล้ามเนื้อเรียงตัวเป็นวงกลมล้อมรอบลำไส้เอาไว้ โดยระหว่างชั้นกล้ามเนื้อมีร่างแหประสาทอยู่ตรงกลาง ชั้นใต้เยื่อเมือก (Submucosa) เป็นชั้นของเนื้อเยื่อประสาน มีเส้นเลือดปมประสาทและหลอดน้ำเหลืองอยู่ในชั้นนี้ ชั้นเยื่อเมือก (Mucosa) เป็นชั้นที่มีส่วนสำคัญที่สุดของระบบย่อย และการดูดซึมสารอาหาร ดังแสดงในภาพที่ 2.5 ซึ่งลำไส้เล็กสามารถแบ่งออกเป็น 3 ส่วน ดังนี้ ลำไส้เล็กส่วนต้น (Duodenum) เป็นส่วนที่ต่อจากกระเพาะอาหาร และมีการย่อยอาหารมากที่สุด ต่อมาคือลำไส้เล็กส่วนกลาง (Jejunum) เป็นลำไส้เล็กส่วนที่ยาวที่สุด และมีการดูดซึมมากที่สุด และลำไส้เล็กส่วนปลาย (Ileum) เป็นลำไส้เล็กส่วนสุดท้าย ซึ่งเชื่อมต่ออยู่กับลำไส้ใหญ่

วิลไล (Villi) เป็นเนื้อเยื่อที่ยื่นออกมาจากชั้นเยื่อบุเมือก ปกคลุมด้วยเนื้อเยื่อบุผิวที่ประกอบด้วยเซลล์รูปร่างหลายเหลี่ยมเรียงกันหลายชั้น (Stratified squamous epithelium) และชั้นเยื่อบุผิวในลำไส้ (Simple columnar epithelium) มีอายุประมาณ 3-5 วันแล้วจะหลุดออกไป

คริป (Crypt) เป็นบริเวณฐานของวิลไล ในส่วนนี้มีต่อมที่ทำหน้าที่สร้างสารคัดหลั่ง เช่น ฮอร์โมน น้ำย่อย และเมือกต่าง ๆ เพื่อทำหน้าที่ป้องกันผนังลำไส้ รวมทั้งเป็นบริเวณที่มีการแบ่งเซลล์เพื่อทดแทนเซลล์ที่หลุดออกจากปลายวิลไล



ภาพที่ 2.5 แสดงโครงสร้างของผนังลำไส้เล็ก (Frederick et al., 1997)

ในไก่เนื้อวิลไลบริเวณลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัมจะพัฒนาอย่างสมบูรณ์ภายใน 7 วัน หลังจากฟักไข่ แต่วิลไลส่วนเจจูนัมและไอเลียมจะพัฒนาอย่างสมบูรณ์เมื่ออายุประมาณ 14 วันหลังการฟักไข่ วิลไลที่มีความยาวมากจะมีพื้นที่ในการดูดซึมสารอาหารมากกว่าวิลไลที่มีขนาดสั้น ดังนั้นในการเลี้ยงไก่เนื้อ หากสามารถกระตุ้นการพัฒนาวิลไลให้มีความสมบูรณ์ได้เร็ว ไก่ก็จะสามารถดูดซึมสารอาหารได้มาก ส่งผลต่อเนื่องถึงการเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต และเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหาร ผลของการเสริมกลูตามีนต่อความยาวของวิลลไลในลำไส้เล็กของไก่เนื้อได้แสดงไว้ในตารางที่ 2.3 โดย Bartell and Batal (2007) รายงานว่าการเสริมกลูตามีนที่ระดับ 1 และ 4% สามารถเพิ่มความสูงของวิลไลในลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัม เจจูนัม และไอเลียมได้

2.2.3 ผลของการเสริมกลูตามีนต่อการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกัน

กลูตามีนมีบทบาทในการสร้างฟอสโฟไลปิด เพื่อทำให้เซลล์เมมเบรนแข็งแรง และมีความสามารถทนต่อการถูกกลืนกินจากเชื้อโรค โดยปกติลิมโฟไซท์และแมคโครฟาจจะใช้กลูตามีนเป็นแหล่งพลังงานหลักในการเพิ่มจำนวนเซลล์ ซึ่งมีผลต่อการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน นอกจากนั้นกลูตามีนยังมีผลต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์เอนเทอร์โรไซท์ในลำไส้โดย Calder and Yaqoob (1999) รายงานว่า การเสริมกลูตามีนในอัตราสูงมีผลต่อการเพิ่มการทำงานของลิมโฟไซท์และการสร้างไซโตไคน์ (Cytokine) โดยทั่วไปแล้วอิมมูโนโกลบูลินชนิดเอ (IgA) ทำหน้าที่ช่วยปกป้องพื้นผิวลำไส้ไม่ให้เชื้อแบคทีเรียเกาะติดผนังลำไส้ และก่อให้เกิดโรค แต่เมื่ออิมมูโนโกลบูลินชนิดเอภายในทางเดินอาหารมีปริมาณลดลง จะทำให้เกิดอันตรายต่อสัตว์ได้ง่าย และมีผลทำให้การดูดซึมอาหารด้อยประสิทธิภาพลง (Carstensen et al., 2005) แต่ในส่วนของแกมมาอินเตอร์ฟีรอน (IFN-γ) เป็นไซโตไคน์ที่มีฤทธิ์ขัดขวางการเพิ่มจำนวนของไวรัสในเซลล์ของร่างกาย โดยอินเตอร์ลิวคินชนิดที่ 2 (Interleukin-2) มีความสามารถในการทำให้ที่ลิมโฟไซท์แบ่งตัวและมีชีวิตอยู่ได้ (สุทธิพันธ์ และคณะ, 2542) จากตารางที่ 2.4 แสดงผลการเสริมกลูตามีนต่อการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกัน Bartell and Batal (2007) รายงานว่าการเสริมกลูตามีนในอาหารไก่เนื้อที่ระดับ 1% สามารถเพิ่มอิมมูโนโกลบูลินชนิดเอ และชนิดจี (IgG) ในซีรัม และอิมมูโนโกลบูลินชนิดเอในลำไส้ (Intestinal IgA) ได้ ($P<0.05$) ส่วน Johnson et al. (2006) พบว่าการเสริมกลูตามีนที่ระดับ 4.3% ในอาหารลูกสุกรหย่านม มีผลต่อการเพิ่มสัดส่วนของแกมมาอินเตอร์ฟีรอนต่ออินเตอร์ลิวคินชนิดที่ 4 (IFN-γ/IL-4) ได้ ($P<0.05$)

ตารางที่ 2.3 ผลของการเสริมกลูตามีนต่อความยาววิลไลในลำไส้เล็กของไก่เนื้อ

Reference	Level	Villi height (μm)		
		Dudenum	Jejunum	Ileum
Soltan (2009)	Control	890.7[b]	456.5[b]	-
	0.5%	992.7[ab]	620.5[b]	-
	1.0%	1023.1[a]	730.4[a]	-
	1.5%	1047.1[a]	746.6[a]	-
	2.0%	1089.5[a]	785.4[a]	-
Bartell and Batal (2007)	Control	738.6[b]	447.0[c]	-
	1%	907.6[a]	749.6[b]	-
	4%	936.6[a]	783.7[a]	-
Murakami et al. (2007)	10% vitamin E	888.4	552.1	339.9
	1% Gln+10% vitamine E	919.7	527.2	369.4
	500 % vitamine E	803.9	454.6	384.2
	1%Gln+500% vitamine E	855.3	493.2	382.5
Yi et al. (2005)	Control	792.0	-	-
	1% Gln	724.0	-	-
	1% Gln+vaccination	709.0	-	-

[a-c] Means with different superscripts in a column in each references are significantly different ($P<0.05$)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 2.4 ผลของการเสริมกลูตามีนต่อการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกัน

References	Animal	Level	Serum IgA	Serum IgG	Intestinal IgA
Bartell and Batal	Chickens		(ng/ml)	(ng/ml)	(ng/ml)
(2007)		Day 7	0.63[b]	1.24[b]	-
		Control	0.99[a]	1.33[a]	-
		1%			
		Day 14	0.90	1.57[b]	-
		Control	1.25	1.89[a]	-
		1%			
		Day 21	1.29	2.29[b]	1.91[b]
		Control	1.43	2.59[a]	2.83[a]
		1%			
Johnson et al. (2006)			% of total cells		
		Day 35			
		Control	5	-	40
		4.3%	4	-	42
			IFN- γ (pg/ml)	IL-2 (pg/ml)	IFN- γ/IL-4
Johnson et al. (2006)	Weaned	Day 35[2]			
	pigs[1]	Control	364	735	1.4[b]
		4.3%	587	532	5.5[a]

[a, b] Means with different superscripts in a column in each references are significantly different ($P<0.05$)

[1] weaned at 21 days old

[2] days after weaned

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ศึกษาหาระดับการเสริมกลูตามีนที่เหมาะสมในอาหารไก่เนื้อ และการทดลองที่ 2 การศึกษาผลของการเสริมกลูตามีนที่ระยะเวลาต่างๆ ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ การพัฒนาการของระบบทางเดินอาหาร และการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกัน

3.1. การทดลองที่ 1: การศึกษาหาระดับการเสริมกลูตามีนที่เหมาะสมในอาหารไก่เนื้อ

เพื่อศึกษาผลของการเสริมกลูตามีนในอาหารไก่เนื้อที่ระดับต่างๆ ต่อการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ การพัฒนาการของระบบทางเดินอาหาร และการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันของไก่เนื้อ

3.1.1. สัตว์ทดลอง

ใช้ไก่เนื้อเพศผู้สายพันธุ์ทางการค้าอาร์เบอร์ เอเคอร์ส (Arbor Acres) อายุ 1 วัน น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 41.5 กรัม สุ่มไก่จำนวน 32 ตัวขึ้นกรง โดยแบ่งไก่ออกเป็น 4 กลุ่มๆ ละ 8 ซ้ำๆ ละ 1 ตัว มีระยะเวลาทดลอง 21 วัน ใช้แผนงานทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยให้อาหารและน้ำแบบเต็มที่

3.1.2. อาหารทดลอง

เป็นการทดสอบการใช้กลูตามีนเสริมในอาหารไก่เนื้อ โดยมีการเสริมกลูตามีนในอาหารที่ระดับต่างๆ อาหารทดลองทั้งหมดคำนวณให้มีระดับของโปรตีนและพลังงานเท่ากัน ตามคำแนะนำของ NRC (1994) ดังแสดงในตารางที่ 3.1 อาหารทดลองที่ใช้แบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ประกอบด้วย

กลุ่มที่ 1 : สูตรควบคุม (Control)
กลุ่มที่ 2 : เสริมกลูตามีน 1%
กลุ่มที่ 3 : เสริมกลูตามีน 2%
กลุ่มที่ 4 : เสริมกลูตามีน 3%

ตารางที่ 3.1 ส่วนประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง (การทดลองที่ 1)

		Glutamine level		
Item	Control	1%	2%	3%
Ingredients, %				
Corn	49.18	47.80	47.06	46.17
Soybean meal	28.65	28.72	28.72	28.84
Fish meal	9.00	9.00	9.00	9.00
Rice bran	5.00	5.00	5.00	5.00
Cassava starch	3.00	2.00	1.00	0.00
Soybean oil	3.10	3.86	4.60	5.36
Salt	0.25	0.25	0.25	0.25
DL-Methionine	0.26	0.27	0.27	0.28
Glutamine	0.00	1.00	2.00	3.00
Calcium carbonate	0.06	0.60	0.60	0.60
Dicalcium phosphate	1.00	1.00	1.00	1.00
Premix[1]	0.50	0.50	0.50	0.50
Calculated composition, %				
AME, kcal/kg	3102	3102	3102	3102
Met + Cys	0.90	0.90	0.90	0.90
Lys	1.20	1.20	1.20	1.20
Ca	1.02	1.02	1.02	1.02
Available P	0.62	0.62	0.62	0.62
Analyzed composition, %				
DM	92.06	92.29	92.22	92.51
CP	21.43	22.36	22.37	24.13
CF	2.91	2.80	2.84	2.90
EE	6.39	7.21	7.31	8.75

[1]Premix (0.5%) provided the following per kilogram of diet: vitamin A, 15,000 IU; vitamin D_3, 3,000 IU; vitamin E, 25 IU; vitamin K_3, 5 mg; vitamin B_1, 2.5 mg; vitamin B_2, 7 mg; vitamin B_6, 4.5 mg; vitamin B_{12}, 25 μg; pantothenic acid, 35 mg; folic acid, 0.5 mg; biotin, 25 μg; nicotinic acid, 35 mg; choline chloride, 250 mg; Mn, 60 mg; Zn, 45 mg; Fe, 80 mg; Cu, 1.6 mg; I, 0.4 mg; Se, 0.15 mg.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.1.3 การเก็บข้อมูล

3.1.3.1 การเก็บมูลเพื่อวัดการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ

ทำการเก็บมูลทั้งหมดที่ไก่ขับถ่ายออกมาวันละ 1 ครั้ง ในเวลา 10.00 น. ในช่วง 4 วัน สุดท้ายของการทดลอง โดยเก็บมูลในถาดพลาสติกที่รองไว้ใต้กรง โดยรองเพื่อเก็บมูลเป็นเวลา 24 ชั่วโมง สเปรย์มูลที่เก็บได้ในแต่ละวันด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 5% เพื่อป้องกันการสูญเสียไนโตรเจน และนำมูลของไก่แต่ละตัวที่ได้รับในแต่ละวัน ไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 55^0C นำมาบดใส่ถุงพลาสติกและเก็บไว้เพื่อรอการวิเคราะห์ทางเคมีต่อไป

3.1.3.2 การเก็บข้อมูลเพื่อวัดการเจริญของวิลไล (villi) และน้ำหนักอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการย่อยอาหารและสร้างภูมิคุ้มกัน

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สุ่มไก่กลุ่มการทดลองละ 3 ตัว ทำให้สลบและฆ่า เปิดช่องท้องเพื่อเก็บม้าม (Spleen) เบอร์ซ่า (Bursa) และซีกัม (Ceca) ในส่วนของลำไส้เล็กทำการแยกออกเป็น 3 ส่วน (ดูโอดีนัม เจจูนัม และไอเลียม) ล้างลำไส้ส่วนดูโอดีนัมและเจจูนัมด้วยน้ำเกลือ ในส่วนของไอเลียมให้ล้างด้วยน้ำกลั่นจากนั้นนำลำไส้ส่วนต่างๆ มาชั่งน้ำหนัก ทำการเก็บลำไส้ส่วนดูโอดีนัมและเจจูนัม โดยเก็บแต่ละส่วนให้มีความยาวประมาณ 2 เซนติเมตร ตรึงบนแผ่นโฟม นำไปใส่ลงในขวดพลาสติกที่มีสารละลายบัฟเฟอร์ฟอร์มาลิน 10% (สารละลาย 1 ลิตร ประกอบด้วย ฟอร์มัลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้น 37-40% 100 มิลลิลิตร โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตโมโนไฮเดรต 1.683 กรัม และไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตแอนไฮดรัส 5.836 กรัม) เพื่อรักษาให้เนื้อเยื่อมีสภาพเซลล์เหมือนกับเมื่อมีชีวิตอยู่ และทำให้เนื้อเยื่อมีความแข็งสามารถตัดเป็นชิ้นบางๆ ได้ เมื่อต้องการศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาค (Histology) นำไปผ่านกระบวนการโดยใช้เครื่อง Automatic tissue processer ตามวิธีการของสมชัย (2529) ซึ่งมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

เอทานอล 70% ครั้งละ 5 ชั่วโมง 1 ครั้ง
เอทานอล 70% ครั้งละ 2 ชั่วโมง 1 ครั้ง
เอทานอล 80% ครั้งละ 1 ชั่วโมง 2 ครั้ง
เอทานอล 95% ครั้งละ 1 ชั่วโมง 2 ครั้ง
เอทานอล 100% ครั้งละ 1 ชั่วโมง 2 ครั้ง
ไซลีน 1 ชั่วโมง 2 ครั้ง
พาราฟินหลอมเหลว 1 ชั่วโมง 30 นาที 2 ครั้ง

นำเนื้อเยื่อเข้าเครื่องปรับความดันสุญญากาศ ตั้งความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 30 นาที

นำเนื้อเยื่อมาฝังในพาราฟิน (Embedding) โดยใช้เครื่องหยอดพาราฟิน ทิ้งไว้ให้พาราฟินแข็งตัว นำบล็อคพาราฟินที่มีชิ้นเนื้อฝังอยู่มาตัดหน้าบล็อค แล้วนำไปตัดด้วยเครื่องไมโครโตมให้เนื้อเยื่อมีความหนาขนาด 5 ไมโครเมตร

นำเนื้อเยื่อที่ตัดแล้ว (Section) มาติดกับกระจกสไลด์ โดยนำเนื้อเยื่อที่ตัดแล้วลอยในอ่างลอยเนื้อเยื่อ (Tissue floating bath) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ภายในอ่างผสมเจลาตินในอัตราส่วนเจลาติน 0.5 กรัมต่อน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร แล้ววางกระจกสไลด์พร้อมเนื้อเยื่อที่ตัดแล้วที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ข้ามคืน

นำกระจกสไลด์ที่มีเนื้อเยื่ออยู่ไปย้อมสี โดยสีที่ใช้ คือ ฮีมาทอกซิลิน (Hematoxylin) และอีโอซิน (Eosin) มีขั้นตอนการย้อมดังนี้

การขจัดพาราฟิน (Deparaffinization) โดยจุ่มกระจกสไลด์ที่มีอยู่ลงไปในไซลิน 2 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที

การเอาน้ำเข้าเนื้อเยื่อ (Hydration) โดยเริ่มจาก

เอทิลแอลกอฮอล์ 100% 2 นาที

เอทิลแอลกอฮอล์ 95% 2 นาที

เอทิลแอลกอฮอล์ 70% 2 นาที

ล้างด้วยน้ำประปา โดยเปิดน้ำให้ไหลตลอดเวลา ประมาณ 2 นาที

การย้อมสีครั้งแรก (Primary stain) ย้อมด้วยฮีมาทอกซิลินนานประมาณ 4 นาที 30 วินาที แล้วล้างด้วยน้ำประปาโดยเปิดให้น้ำไหลผ่านตลอดเวลา จนกระทั่งน้ำที่ล้างใสไม่มีสีม่วงออกมาอีก การล้างสีส่วนเกินโดยการจุ่มกระจกสไลด์ที่มีเนื้อเยื่ออยู่ลงในแอลกอฮอล์ 1 ครั้ง แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด โดยเปิดให้น้ำไหลผ่านเป็นเวลา 1-2 นาที

การปรับเนื้อเยื่อให้มีสภาพเป็นกลาง (Neutralization) โดยการจุ่มกระจกสไลด์ที่มีเนื้อเยื่ออยู่ลงในลิเทียมคาร์บอเนต (Li_2CO_3) นานประมาณ 1 นาที แล้วล้างด้วยน้ำ โดยเปิดน้ำไหลผ่านเป็นเวลา 1-2 นาที

การย้อมสีซ้ำ (Counterstain) ย้อมด้วย Eosin นาน 2 นาที

การขจัดน้ำ (Dehydration) เริ่มจาก

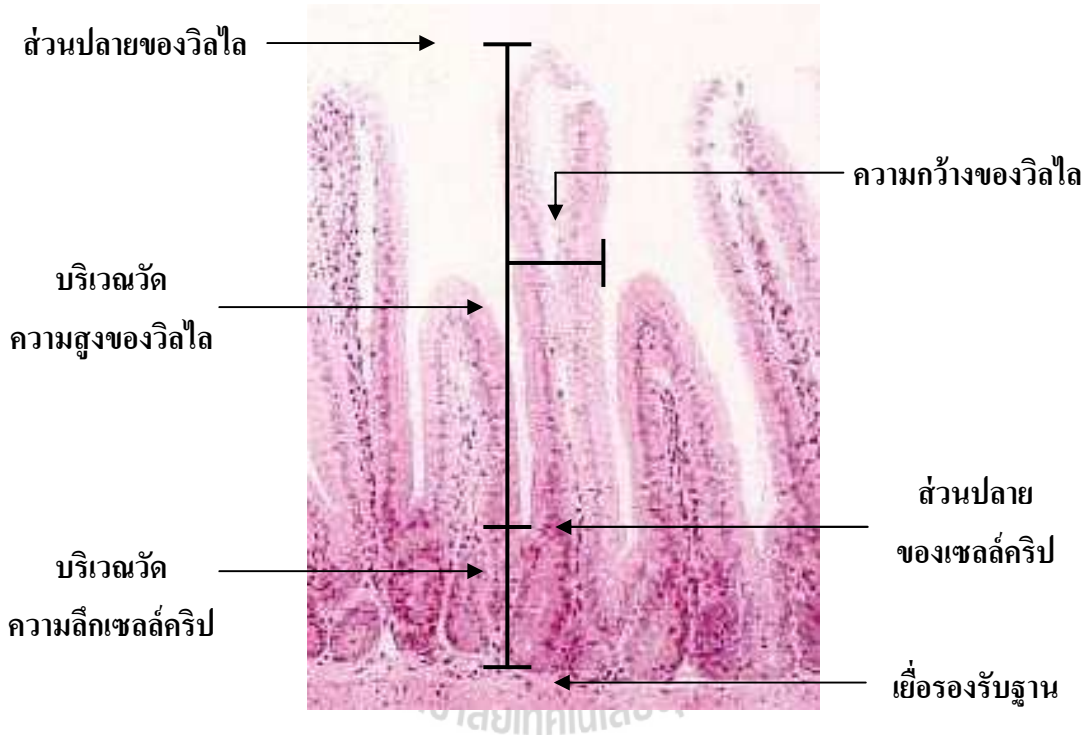
จุ่มในเอทิลแอลกอฮอล์ 70% 30 วินาที

จุ่มในเอทิลแอลกอฮอล์ 95% 2 ครั้งๆ ละ 2 นาที

จุ่มในเอทิลแอลกอฮอล์ 100% 2 ครั้งๆ ละ 2 นาที

การขจัดแอลกอฮอล์ และทำให้เนื้อเยื่อใส (Clearing) โดยการจุ่มกระจกสไลด์ที่มีเนื้อเยื่ออยู่ลงในไซลีน 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที หยด Mounting median ลงบนกระจกสไลด์แล้วปิดด้วยกระจกปิดสไลด์

นำกระจกสไลด์ที่มีเนื้อเยื่อที่ย้อมสีเสร็จแล้วไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10 เท่า (Objective 10X) ตามวิธีการของ Hartke et al. (2005) เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคของความสูงวิลไล โดยวัดจากปลายของวิลไลถึงฐานของวิลไล (Hedemann et al., 2006) และความกว้างของวิลไล (วัดที่ความสูงครึ่งหนึ่งของวิลไล) ดังแสดงในภาพที่ 3.1 สำหรับการวัดความลึกของเซลล์คริปวัดจากเยื่อรองรับฐาน (Basement membrane) ถึงส่วนปลายของเซลล์คริป (Crypt mouth) และคำนวณหาสัดส่วนของความยาววิลไลต่อความลึกของเซลล์คริป (กระสินธ์, 2551)



ภาพที่ 3.1 แสดงวิธีการวัดความสูงของวิลไลและความลึกของเซลล์คริป

3.1.4 การวิเคราะห์ทางเคมี

1. วิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีในอาหาร (ความชื้น โปรตีน เถ้า ไขมัน เยื่อใย แคลเซียม และฟอสฟอรัส) (AOAC, 1990)

2. วิเคราะห์หาโภชนะในมูล โดยวิเคราะห์หาค่าความชื้น เถ้า และปริมาณไนโตรเจน ตามวิธี AOAC (1990)

3.1.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติ ด้วยแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) CRD (SAS Institute, 1996) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยวิธี DUNCAN

3.2. การทดลองที่ 2: การศึกษาผลของการเสริมกลูตามีนที่ระยะเวลาต่างๆ ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต การพัฒนาการของระบบทางเดินอาหาร และการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันของไก่เนื้อ

เพื่อศึกษาหาผลของการเสริมกลูตามีนในอาหารไก่เนื้อที่ระยะเวลาต่างๆ (7, 14, 21 และ 28 วัน) ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต พัฒนาการของลำไส้เล็ก และการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกัน โดยคัดเลือกระดับกลูตามีนที่มีความเหมาะสมที่ผ่านการทดสอบเบื้องต้นในการทดลองที่ 1 มาใช้เสริมในสูตรอาหาร เพื่อดูว่าควรมีการเสริมกลูตามีนที่ระดับใด และนานเท่าใดถึงจะส่งผลดีที่สุด จากการค้นคว้าเอกสารพบว่า การพัฒนาของเซลล์ในระบบทางเดินอาหารและภูมิคุ้มกันจะมีการพัฒนาสมบูรณ์ที่อายุประมาณ 21 วัน จึงได้เลือกทำการเสริมกลูตามีนจนกระทั่งไก่อายุ 28 วัน เพื่อให้ได้มาซึ่งข้อมูลที่ครอบคลุมตลอดการพัฒนาของระบบทางเดินอาหาร

3.2.1 สัตว์ทดลอง

ใช้ไก่เนื้อคละเพศ อายุ 1 วัน จำนวน 300 ตัว โดยแบ่งไก่ออกเป็น 5 กลุ่มๆ ละ 3 ซ้ำๆ ละ 20 ตัว แต่ละซ้ำเลี้ยงในคอกแบบปล่อยพื้น ทำการชั่งน้ำหนักลูกไก่ทุกตัวก่อนสุ่มไก่เข้างานทดลอง ไก่ทุกตัวได้รับน้ำและอาหารอย่างเต็มที่

3.2.2 อาหารทดลอง

อาหารทดลองประกอบด้วย อาหารสูตรควบคุมและอาหารเสริมกลูตามีนที่ระดับ 1% โดยเสริมเป็นระยะเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน ทำการเลี้ยงไก่ทั้งหมดเป็นระยะเวลา 42 วัน อาหารทดลองทั้งหมด คำนวณให้มีระดับของโปรตีนและพลังงานเท่ากัน ตามคำแนะนำของ NRC (1994) ดังแสดงในตารางที่ 3.2

กลุ่มที่ 1 : สูตรควบคุม (Control)
กลุ่มที่ 2 : เสริมกลูตามีน เป็นเวลา 7 วัน
กลุ่มที่ 3 : เสริมกลูตามีน เป็นเวลา 14 วัน
กลุ่มที่ 4 : เสริมกลูตามีน เป็นเวลา 21 วัน
กลุ่มที่ 5 : เสริมกลูตามีน เป็นเวลา 28 วัน

3.2.3 การเก็บข้อมูล

ทำการบันทึกน้ำหนักตัว และปริมาณอาหารที่กินทุกสัปดาห์ ส่วนอัตราการตายบันทึกทุกครั้งที่มีไก่ตาย ทำการสุ่มไก่กลุ่มการทดลองละ 3 ตัว ที่อายุ 0, 7, 14, 21, 28, 35 และ 42 วัน เก็บเลือดบริเวณปีก (Wing vein) เพื่อวัดภูมิคุ้มกัน (ดังวิธีการข้างล่าง) หลังจากนั้นทำให้สลบและฆ่า เปิดช่องท้อง เพื่อเก็บน้ำหนักต่อมเบอร์ซ่าร์และม้าม ทำการเก็บลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัมเพื่อวัดการเจริญของวิลไลโดยมีวิธีการคล้ายคลึงกับข้อ 3.1.3.2 สำหรับลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม ทำการเก็บให้มีความยาวประมาณ 10 เซนติเมตร นำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20^{0}C จนกระทั่งจะทำการวิเคราะห์ เมื่อจะวิเคราะห์ให้นำลำไส้ส่วนเจจูนัมมาปล่อยให้ละลายที่อุณหภูมิห้อง ทำการชั่งเจจูนัม 2 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นอีก 20 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นสารละลาย (Homogenize) เป็นเวลา 30 วินาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ 20,000 x g เป็นเวลา 30 นาที ดูดสารละลายที่ลอยอยู่ส่วนบน (Supernatant) ไว้ในหลอดเก็บตัวอย่างขนาด 2 มิลลิลิตร แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20^{0}C เพื่อรอการวิเคราะห์ตามวิธีการของ Bartell and Batal (2007) เพื่อวิเคราะห์หาระดับของอิมมูโนโกลบูลินโดยใช้ชุดวัดอิมมูโนโกลบูลิน (Total immunoglobulin test kit) (Sigma-Aldrich Corp, St. Lousi, MO, USA)

สำหรับเลือด ทำการถ่ายเลือดจากกระบอกฉีดยาลงในหลอดเก็บตัวอย่างที่ไม่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดเพื่อเก็บตัวอย่างซีรัม จากนั้นเก็บตัวอย่างเลือดในกระติกน้ำแข็งที่มีอุณหภูมิ 4^{0}C ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 1 ถึง 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2000 x g เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำซีรัมที่ได้ไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20^{0}C ตามวิธีการของ Engle et al. (1999) เพื่อนำไปใช้ในวิเคราะห์ค่าปริมาณอิมมูโนโกลบูลินในซีรัม โดยใช้ชุดวัดอิมมูโนโกลบูลินเช่นเดียวกับลำไส้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.2.4 การวิเคราะห์ทางเคมี

วิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีในอาหาร ได้แก่ ความชื้น โปรตีน เถ้า ไขมัน เยื่อใย แคลเซียม และฟอสฟอรัส ตามวิธีการของ AOAC (1990)

3.2.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติด้วยแผนการทดลองแบบ CRD และวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มการทดลองด้วยวิธี DUNCAN โดยโปรแกรม SAS (SAS Institute, 1996)

ตารางที่ 3.2 ส่วนประกอบทางเคมีของอาหารทดลอง (การทดลองที่ 2)

	Dietary treatments			
	Starter (0 to 21 d)		Finisher (22 to 42 d)	
Item	Control	1% Gln	Control	1% Gln
Ingredients, %				
Corn	48.64	47.80	52.04	51.17
Soybean meal	28.65	28.72	28.72	28.84
Fish meal	9.00	9.00	5.00	5.00
Rice bran	5.00	5.00	5.00	5.00
Cassava starch	3.00	2.00	3.00	2.00
Soybean oil	3.10	3.86	3.24	3.99
Salt	0.25	0.25	0.25	0.25
DL-Methionine	0.26	0.27	0.20	0.20
Glutamine	0.00	1.00	0.00	1.00
Calcium carbomate	0.60	0.60	0.60	0.60
Dicalcium phosphate	1.00	1.00	1.45	1.45
Premix[1]	0.50	0.50	0.50	0.50
Calculated composition (%)				
ME, kcal/kg	3102	3102	3102	3102
Met + Cys	0.90	0.90	0.78	0.78
Lys	1.20	1.20	1.03	1.03
Ca	1.02	1.02	0.90	0.90
Available P	0.62	0.62	0.57	0.57
Analyzed composition (%)				
DM	93.34	93.55	93.52	93.29
CP	22.40	22.81	19.85	19.99
CF	2.70	2.95	2.57	3.47
EE	7.03	6.72	6.29	7.24

[1]Premix (0.5%) provided the following per kilogram of diet: vitamin A, 15,000 IU; vitamin D3, 3,000 IU; vitamin E, 25 IU; vitamin K3, 5 mg; vitamin B1, 2.5 mg; vitamin B2, 7 mg; vitamin B6, 4.5 mg; vitamin B12, 25 μg ; pantothenic acid, 35 mg; folic acid, 0.5 mg; biotin, 25 μg ; nicotinic acid, 35 mg; choline chloride, 250 mg; Mn, 60 mg; Zn, 45 mg; Fe, 80 mg; Cu, 1.6 mg; I, 0.4 mg; Se, 0.15 mg.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการศึกษา

4.1. การทดลองที่ 1: การศึกษาหาระดับการเสริมกลูตามีนที่เหมาะสมในอาหารไก่เนื้อ

การย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.1 โดยภาพรวมสรุปได้ว่าการเสริมกลูตามีนที่ระดับต่างๆ ไม่ส่งผลกระทบต่อการย่อยได้ของวัตถุแห้ง สารอินทรีย์ เถ้า และการใช้ประโยชน์ได้ของไนโตรเจน ถึงแม้ว่าค่าต่างๆ เหล่านี้ลดลงตามระดับการเสริมกลูตามีนที่เพิ่มขึ้น แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) โดยการย่อยได้ของสิ่งแห้งมีค่า 74.01, 72.60, 72.55 และ 68.83%; การย่อยได้ของเถ้ามีค่า 38.88, 38.90, 38.52 และ 38.32%; การย่อยได้ของสารอินทรีย์มีค่า 77.80, 75.92, 72.55 และ 68.83% และการใช้ประโยชน์ได้ของไนโตรเจนมีค่า 67.52, 66.70, 66.07 และ 64.40% ในไก่กลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม และเสริมกลูตามีนระดับ 1, 2 และ 3% ตามลำดับ

ผลของกลูตามีนต่อน้ำหนักอวัยวะของไก่เนื้อได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.2 โดยพบว่าน้ำหนักต่อมเบอร์ซาร์ ลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัม เจจูนัม และไอเลียม และลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัมต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม ในแต่ละกลุ่มการทดลอง มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ในขณะที่น้ำหนักม้ามในไก่กลุ่มที่ได้รับกลูตามีน 3% มีค่าสูงกว่าไก่ที่รับอาหารสูตรควบคุม และกลูตามีนระดับ 1 และ 2% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยน้ำหนักม้ามต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม มีค่า 0.12, 0.09, 0.11 และ 1.99 ในไก่กลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม และเสริมกลูตามีนระดับ 1, 2 และ 3% ตามลำดับ

ตารางที่ 4.1 ผลของกลูตามีนต่อการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในไก่เนื้อ (การทดลองที่ 1)[1]

		Glutamine level				
	Control	1%	2%	3%	SEM	P-value
DM (%)	74.01	72.60	72.55	68.83	25.4555	0.3754
Ash (%)	38.88	38.90	38.52	38.32	13.6744	0.9996
OM (%)	77.80	75.92	72.55	68.83	25.4555	0.3574
N retention (%)	67.52	66.70	66.07	64.40	23.3956	0.5965

[1] Values for each parameter represent mean values of 8 observations

ตารางที่ 4.2 ผลของกลูตามีนต่อน้ำหนักอวัยวะของไก่เนื้อ (g/100g BW) (การทดลองที่ 1)[1]

		Glutamine level				
	Control	1%	2%	3%	SEM	P-value
Spleen	0.12[b]	0.09[b]	0.11[b]	1.99[a]	0.0553	0.0001
Bursa	0.24	0.21	0.28	0.32	0.0541	0.5908
Duodenum	1.16	0.96	0.88	0.97	0.1131	0.4499
Jejunum	1.69	1.50	1.48	1.58	0.1422	0.7373
Ileum	1.33	1.27	1.24	1.22	0.0722	0.7203
Ceca	1.24	0.73	0.81	0.69	0.1855	0.2799

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

[1] Values for each parameter represent mean values of 2 observations

ผลของการเสริมกลูตามีนต่อลักษณะทางจุลภายวิภาคในลำไส้เล็กของไก่เนื้อ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.3 โดยพบว่ากลูตามีนไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความสูงของวิลไล ($P>0.05$) ซึ่งค่าความสูงวิลไลของลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัม และไอเลียม เท่ากับ 331, 449, 248, 180 ไมโครเมตร และ 257, 552, 333 และ 320 ไมโครเมตร ในไก่ที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม และเสริมกลูตามีน 1.0, 2.0 และ 3% ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากค่าความลึกของเซลล์คริปที่ลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัมและเจจูนัม พบว่าการเสริมกลูตามีนที่ระดับต่างๆ ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งค่าความลึกของเซลล์คริปที่ลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัมมีเท่ากับ 125, 132, 124, และ 102 ไมโครเมตร และที่ลำไส้เล็กส่วนไอเลียมมีค่าเท่ากับ 93, 107, 97 และ 98 ไมโครเมตร ในไก่ที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม และเสริมกลูตามีน 1.0, 2.0 และ 3% ตามลำดับ

สำหรับความกว้างของวิลไล พบว่าการเสริมกลูตามีนที่ระดับต่างๆ มีผลต่อการเพิ่มความกว้างของวิลไลที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัม ($P<0.05$) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 86, 92, 68 และ 51 ไมโครเมตร ในไก่ที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม และเสริมกลูตามีน 1, 2 และ 3% ตามลำดับ โดยการเสริมกลูตามีนที่ระดับ 1% มีผลต่อการเพิ่มความกว้างของวิลไลสูงสุด ($P<0.05$) แต่อย่างไรก็ตามการเสริมกลูตามีนที่ระดับ 2 และ 3% ส่งผลในการลดความกว้างวิลไล ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในขณะที่การเสริมกลูตามีนไม่มีผลในการเปลี่ยนแปลงความกว้างของวิลไลในส่วนของเจจูนัม ซึ่งมีค่าเท่ากับ 99, 102, 88 และ 81 ไมโครเมตร ในไก่กลุ่มได้รับอาหารสูตรควบคุม และเสริมกลูตามีน 1, 2 และ 3% ตามลำดับ

สำหรับสัดส่วนของวิลไลต่อความลึกของเซลล์คริป พบว่ามีค่าสอดคล้องกับความกว้างวิลไล โดยสัดส่วนของวิลไลต่อความลึกของเซลล์คริปในลำไส้ส่วนดูโอดีนัมในไก่กลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมกลูตามีน 1% มีค่าเพิ่มขึ้น ($P<0.05$) แต่มีค่าลดลง ($P<0.05$) ในไก่ที่ได้รับอาหารเสริม กลูตามีน 2 และ 3% เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างดังกล่าวอย่างมีนัยสำคัญในลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม ซึ่งสัดส่วนของวิลไลต่อความลึกของเซลล์คริปที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัม มีค่า 2.7, 3.4, 2.0, 1.75 และเจจูนัม 2.7, 5.0, 3.4, 3.0 ในไก่ที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม และเสริมกลูตามีน 1.0, 2.0 และ 3% ตามลำดับ

ตารางที่ 4.3 ผลของกลูตามีนต่อลักษณะทางจุลกายวิภาคในลำไส้เล็กของไก่เนื้อ (การทดลองที่ 1)[1, 2]

		Glutamine level				
Item	Control	1%	2%	3%	SEM	P-value
Villi height (μm)						
Duodenum	331	449	248	180	63.5418	0.1389
Jejunum	257	552	333	320	99.21	0.3024
Crypt depth (μm)						
Duodenum	125	132	124	102	17.9529	0.6868
Jejunum	93	107	97	98	16.6100	0.9280
Villi wide (μm)						
Duodenum	86[b]	92[a]	68[c]	51[d]	1.5116	0.0002
Jejunum	99	102	88	81	11.3400	0.5552
Villi height : Crypt depth						
Duodenum	2.7[b]	3.4[a]	2.0[c]	1.75[c]	0.0075	0.3024
Jejunum	2.7	5.0	3.4	3.0	0.5408	0.1245

[a-d] Means with different superscripts in a row are significantly different (P<0.05)

[1] Values for each parameter represent mean values of 2 observations

[2] Small intestine sample of each treatment was taken from chickens aged 21 days

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4.2. การทดลองที่ 2: การศึกษาผลของการเสริมกลูตามีนที่ระยะเวลาต่างๆ ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต การพัฒนาการของระบบทางเดินอาหาร และการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันของไก่เนื้อ

ผลการทดลองการเสริมกลูตามีนต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.4 จากการทดลองพบว่า ไก่เนื้อในช่วงอายุ 0-21 วัน มีการเพิ่มน้ำหนักตัว ปริมาณอาหารที่กิน และประสิทธิภาพการใช้อาหารไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยการเสริมกลูตามีนในอาหารที่ระดับ 1% เป็นระยะเวลา 0, 7, 14, 21 และ 28 วัน ไก่มีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวเท่ากับ 917.7, 921.6, 929.4, 937.3 และ 952.7 กรัม; ปริมาณอาหารที่กินสะสมเท่ากับ 1,071.3, 1,113.2, 1,130.7 และ 1,089.8 กรัม และประสิทธิภาพการใช้อาหารเท่ากับ 1.23, 1.28, 1.28, 1.23 และ 1.28 ตามลำดับ โดยเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ปริมาณอาหารที่กินสะสม และประสิทธิภาพการใช้อาหารในไก่ที่ได้รับอาหารเสริมกลูตามีน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมคิดเป็น 0.43, 1.28, 2.14 และ 3.82%; 3.91, 5.55. 1.73 และ 7.94%; 4.07, 4.07, 0.00 และ 4.07% ในไก่ที่ได้อาหารเสริมกลูตามีน 1% เป็นระยะเวลา 7, 14, 21 และ 28 วันตามลำดับ

สำหรับสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อตลอดช่วงอายุ 0-42 วัน มีลักษณะคล้ายคลึงกับช่วงอายุ 0-21 วัน คือ มีการน้ำหนักตัว ปริมาณอาหารที่กิน และประสิทธิภาพการใช้อาหารไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ในทุกกลุ่มทดลอง โดยการเสริมกลูตามีนในอาหารที่ระดับ 1% เป็นระยะเวลา 0, 7, 14, 21 และ 28 วันมีน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นเท่ากับ 2,350, 2,430, 2,402, 2,439 และ 2,373 กรัม; ปริมาณอาหารที่กินเท่ากับ 4,629, 4,652, 4,442, 4,416 และ 4,520 กรัม; และประสิทธิภาพการใช้อาหารเท่ากับ 1.97, 1.92, 1.85, 1.81 และ 1.91 ตามลำดับ โดยเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ปริมาณอาหารที่กินสะสม และประสิทธิภาพการใช้อาหารในไก่ที่ได้รับอาหารเสริมกลูตามีนเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมคิดเป็น 3.44, 2.23, 3.78 และ 0.97%; 0.49, -4.04, -4.60 และ -2.54; -6.09, -8.12 และ -3.05% ในไก่ที่ได้รับกลูตามีนเป็นระยะเวลา 7, 14, 21 และ 28 วันตามลำดับ

ผลของกลูตามีนต่อน้ำหนักเบอร์ซาร์และม้าม ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.5 โดยพบว่าทั้งต่อมเบอร์ซาร์และม้ามในไก่ที่ได้รับกลูตามีนระดับ 1% เป็นระยะเวลา 0, 7, 14, 21 และ 28 วัน มีน้ำหนักต่อน้ำหนักตัว 100 กรัมไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) ในทุกกลุ่มการทดลอง

ตารางที่ 4.4 ผลของกลูตามีนต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ (การทดลองที่ 2)[1]

		Glutamine supplemental period (days)						
	Control	7	14	21	28	SEM	Cont vs Gln[2]	P-value
BW gain (g)								
Day 7	132.9	125.8	130.7	132.1	134.6	4.0260	NS[3]	0.6175
Day 14	418.3	419.3	424.0	426.0	453.7	8.1691	NS	0.0631
Day 21	917.7	921.6	929.4	937.3	952.7	14.0788	NS	0.4607
Day 28	1434.3	1433.3	1447.9	1434.4	1434.4	37.7771	NS	0.9963
Day 35	1925.0	1949.3	2006.0	1898.7	1967.5	61.0944	NS	0.7716
Day 42	2350.0	2430.9	2402.4	2439.0	2372.8	62.7912	NS	0.8295
Feed cumulative (g/bird)								
Day 7	153.5	155.8	153.7	159.6	160.2	1.4352	NS	0.1052
Day 14	436.0	468.1	479.7	452.7	491.8	14.4611	NS	0.2757
Day 21	1071.3	1113.2	1130.7	1089.8	1156.3	27.6922	NS	0.2859
Day 28	2020.4	2081.9	2101.6	2021.1	2116.2	34.1748	NS	0.2182
Day 35	3241.9	3465.5	3279.3	3211.2	3332.3	97.8075	NS	0.4359
Day 42	4629.0	4651.8	4441.9	4416.0	4520.4	137.6652	NS	0.6583
FCR (g feed/g BW)								
Day 7	1.16	1.24	1.16	1.21	1.19	0.0385	NS	0.5432
Day 14	1.04	1.12	1.13	1.06	1.08	0.0401	NS	0.4818
Day 21	1.23	1.28	1.28	1.23	1.28	0.0290	NS	0.4832
Day 28	1.41	1.45	1.45	1.39	1.48	0.0371	NS	0.4866
Day 35	1.69	1.78	1.63	1.7	1.7	0.0748	NS	0.7412
Day 42	1.97	1.92	1.85	1.81	1.91	0.0609	NS	0.4271

[a-b]Means with different superscripts in a row are significantly different ($P < 0.05$).

[1]Value for each parameter represent mean values of 3 observations.

[2]Orthogonal polynomial contrast were used to evaluate treatment effects of control vs. mean of glutamine supplementation period

[3]Not significant ($P > 0.05$).

ตารางที่ 4.5 ผลของกลูตามีนต่อน้ำหนักเบอร์ซาร์และม้าม (การทดลองที่ 2)[1]

		Glutamine supplemental period (days)						
	Control	7	14	21	28	SEM	Cont vs Gln[2]	P-value
Bursa (g/100 g BW)								
Day 7	0.20	0.16	0.18	0.16	0.21	0.0179	NS[3]	0.1136
Day 14	0.20	0.20	0.20	0.30	0.20	0.0237	NS	0.2033
Day 21	0.27	0.23	0.21	0.25	0.26	0.0236	NS	0.0918
Day 28	0.19	0.18	0.18	0.26	0.26	0.0229	NS	0.0699
Day 35	0.19	0.11	0.14	0.20	0.17	0.0259	NS	0.1770
Day 42	0.17	0.15	0.13	0.15	0.16	0.0347	NS	0.9597
Spleen (g/100 g BW)								
Day 7	0.07	0.07	0.07	0.06	0.10	0.0089	NS	0.2354
Day 14	0.07	0.08	0.08	0.08	0.07	0.0104	NS	0.7386
Day 21	0.08	0.10	0.08	0.10	0.07	0.0115	NS	0.4727
Day 28	0.09	0.08	0.09	0.09	0.10	0.0071	NS	0.7128
Day 35	0.19	0.10	0.08	0.19	0.22	0.0696	NS	0.5532
Day 42	0.23	0.19	0.24	0.34	0.34	0.0761	NS	0.6470

[a-c]Means with different superscripts in a row are significantly different ($P < 0.05$).

[1]Value for each parameter represent mean values of 3 observations.

[2]Orthogonal polynomial contrast were used to evaluate treatment effects of control vs. mean of glutamine supplementation period.

[3]Not significant ($P > 0.05$).

ผลของการเสริมกลูตามีนต่อลักษณะทางจุลกายวิภาคในลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัมของไก่เนื้อ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.6 โดยพบว่า การเสริมกลูตามีนระดับ 1% เป็นระยะเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความสูงของวิลไล ($P>0.05$) และค่าความลึกของเซลล์คริปในทุกช่วงอายุ ซึ่งค่าความสูงวิลไลในไก่อายุ 21 วัน และ 42 วัน มีค่าเท่ากับ 425, 439, 435, 480 และ 458 ไมโครเมตร และ 838, 775, 684, 674 และ 687 ไมโครเมตร ในไก่ที่ได้รับอาหารเสริมกลูตามีนระดับ 1% เป็นระยะเวลา 0, 7, 14, 21 และ 28 วัน ตามลำดับ สำหรับค่าความลึกของคริปในไก่อายุ 21 วัน และ 42 วัน มีค่าเท่ากับ 89, 89, 68, 64 และ 63 ไมโครเมตร ในไก่ที่ได้รับอาหารเสริมกลูตามีนระดับ 1% เป็นระยะเวลา 0, 7, 14, 21 และ 28 วัน ตามลำดับ

สำหรับความกว้างของวิลไล พบว่าการเสริมกลูตามีนสามารถเพิ่มความกว้างของวิลไลได้สูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) ในไก่อายุ 7 และ 14 วันได้ แต่อย่างไรไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในไก่ที่มีอายุ 21, 28, 35 และ 42 วัน โดยความกว้างวิลไลในไก่อายุ 7 และ 14 วัน มีค่าเท่ากับ 24, 66, 43, 50 และ 61 ไมโครเมตร และ 35, 61, 63, 63 และ 67 ไมโครเมตร ในไก่ที่ได้รับอาหารเสริมกลูตามีนระดับ 1% เป็นระยะเวลา 0, 7, 14, 21 และ 28 วัน ตามลำดับ สำหรับค่าความสูงวิลไลในไก่อายุ 21 และ 42 วัน มีค่าเท่ากับ 37, 59, 56, 59 และ 56 ไมโครเมตร และ 89, 89, 68, 64 และ 63 ไมโครเมตร ตามลำดับ

ค่าสัดส่วนของความสูงวิลไลต่อความลึกของเซลล์คริปพบว่าไม่มีความแตกต่างจากการเสริมกลูตามีนในทุกช่วงอายุ โดยสัดส่วนความสูงวิลไลต่อความลึกของเซลล์คริปในไก่อายุ 21 และ 42 วัน มีค่าเท่ากับ 4.16, 3.76, 4.76, 6.41 และ 6.32 ไมโครเมตร และ 8.49, 6.63, 6.61, 7.30 และ 6.97 ไมโครเมตร ในไก่ที่ได้รับอาหารเสริมกลูตามีนระดับ 1% เป็นระยะเวลา 0, 7, 14, 21 และ 28 วัน ตามลำดับ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.6 ผลของกลูตามีนต่อลักษณะทางจุลกายวิภาคในลำไส้เล็กของไก่เนื้ออายุ 0-42 วัน (การทดลองที่ 2)[1]

		Glutamine supplemental period (days)				SEM	Cont vs Gln[2]	P-value
	Control	7	14	21	28			
Villus height (µm)								
Day 7	284	301	333	382	267	41.3051	NS[3]	0.3642
Day 14	420	395	358	421	483	56.0236	NS	0.6430
Day 21	425	439	435	480	458	60.4075	NS	0.9674
Day 28	607	674	630	789	601	42.1381	NS	0.1198
Day 35	681	656	722	705	777	68.2911	NS	0.7781
Day 42	838	775	684	674	687	58.7963	NS	0.2739
Crypt dept (µm)								
Day 7	75	89	79	61	79	12.4544	NS	0.6337
Day 14	75	75	101	73	94	16.2321	NS	0.6720
Day 21	105	119	91	88	97	9.8446	NS	0.2564
Day 28	87	100	90	98	83	10.3503	NS	0.8217
Day 35	86	114	89	70	74	17.6327	NS	0.4757
Day 42	100	120	104	99	101	6.1262	NS	0.1825
Villus wide (µm)								
Day 7	24[b]	66[a]	43[ab]	50[ab]	61[a]	8.6049	0.0091	0.0413
Day 14	35	61	63	63	67	8.6500	0.0138	0.1322
Day 21	37	59	56	59	56	12.1703	NS	0.7045
Day 28	53	66	78	56	78	10.1390	NS	0.2982
Day 35	76	83	61	70	71	10.9379	NS	0.6866
Day 42	89	89	68	64	63	9.0608	NS	0.1628
Villus height (µm) : Crypt depth (µm)								
Day 7	3.96	3.51	4.59	6.70	4.02	0.8215	NS	0.1246
Day 14	7.06	6.51	3.66	5.80	6.45	1.8968	NS	0.7454
Day 21	4.16	3.76	4.76	6.41	6.32	1.1400	NS	0.3858
Day 28	7.21	7.22	7.05	8.54	8.46	1.2817	NS	0.8513
Day 35	8.66	6.23	8.12	8.54	8.57	1.7156	NS	0.8417
Day 42	8.49	6.63	6.61	7.30	6.97	0.8085	NS	0.5181

[a-b]Means with different superscripts in a row are significantly different ($P < 0.05$).

[1]Value for each parameter represent mean values of 3 observations.

[2]Orthogonal polynomial contrast were used to evaluate treatment effects of control vs. mean of glutamine supplementation period

[3]Not significant ($P > 0.05$)

ผลของกลูตามีนต่อการกระตุ้นการตอบสนองของอิมมูโนโกลบูลินของไก่เนื้ออายุ 0-42 วัน ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.7 พบว่าการเสริมกลูตามีนในอาหารไก่เนื้อระดับ 1% เป็นระยะเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน ไม่มีผลในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในซีรัม (serum total immunoglobulin) ของไก่เนื้อทุกช่วงอายุ ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับค่าภูมิคุ้มกันในลำไส้ (intestinal total immunoglobulin) ที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงแต่อย่างใดจากการเสริมกลูตามีน โดยอิมมูโนโกลบูลินในซีรัมของไก่เนื้ออายุ 21 และ 42 วัน มีค่าเท่ากับ 0.46, 0.52, 0.54, 0.29 และ 0.34 กรัม/เดซิลิตร และ 0.20, 0.56, 0.24, 0.20 และ 0.14 กรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ ในไก่ที่ได้รับอาหารเสริมกลูตามีนระดับ 1% เป็นระยะเวลา 0, 7, 14, 21 และ 28 วัน ตามลำดับ

สำหรับอิมมูโนโกลบูลินในลำไส้เล็กของไก่เนื้ออายุ 21 และ 42 วัน มีค่าเท่ากับ 0.0093, 0.0160, 0.0157, 0.0197 และ 0.0157 กรัม/เดซิลิตร และ 0.0193, 0.0220, 0.0200, 0.0100 และ 0.0143 กรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ ในไก่ที่ได้รับอาหารเสริมกลูตามีนระดับ 1% เป็นระยะเวลา 0, 7, 14, 21 และ 28 วัน ตามลำดับ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.7 ผลของกลูตามีนต่อการกระตุ้นการตอบสนองของอิมมูโนโกลบูลินของไก่เนื้ออายุ 0-42 วัน (การทดลองที่ 2)[1]

		Glutamine supplemental period (days)				SEM	Cont vs Gln[2]	P-value
	Control	7	14	21	28			
Serum total immunoglobulin (g/dl)								
Day 7	1.2420	1.0358	1.1879	1.1497	0.9420	0.0868	NS[3]	0.8920
Day 14	0.7614	1.2005	1.2802	0.8068	0.7720	0.0773	NS	0.3222
Day 21	0.4641	0.5176	0.5388	0.2924	0.3362	0.0432	NS	0.7613
Day 28	0.7672	0.5811	0.6342	0.4826	0.1458	0.0679	NS	0.3328
Day 35	0.5422	0.5189	0.3340	0.4936	0.7398	0.0428	NS	0.5453
Day 42	0.1988	0.5645	0.2351	0.2030	0.1362	0.0237	NS	0.2177
Intestinal total immunoglobulin (g/dl)								
Day 7	0.0087	0.0147	0.0150	0.0110	0.0093	0.000020	NS	0.4844
Day 14	0.0020	0.0053	0.0063	0.0043	0.0040	0.000006	NS	0.3967
Day 21	0.0093	0.0160	0.0157	0.0197	0.0157	0.000016	NS	0.2706
Day 28	0.0087	0.0037	0.0047	0.0127	0.0103	0.000016	NS	0.2623
Day 35	0.0137	0.0077	0.0200	0.0110	0.0157	0.000023	NS	0.2291
Day 42	0.0193	0.0220	0.0200	0.0100	0.0143	0.000046	NS	0.4959

[a-c]Means with different superscripts in a row are significantly different ($P < 0.05$).

[1]Value for each parameter represent mean values of 3 observations.

[2]Orthogonal polynomial contrast were used to evaluate treatment effects of control vs. mean of glutamine supplementation period.

[3]Not significant ($P > 0.05$).

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลการวิจารณ์

จากการศึกษาหาระดับการเสริมกลูตามีนที่เหมาะสมในอาหารไก่เนื้อ พบว่าการเสริมกลูตามีนที่ระดับ 1% มีประสิทธิภาพสูงสุด (การทดลองที่ 1) โดยที่ระดับดังกล่าวสามารถเพิ่มความกว้างของวิลไลในลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัมของไก่อายุ 21 วันได้สูงสุด ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารควบคุมที่ไม่มีการเสริม ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ Maiorka et al. (2000) ที่รายงานว่าการเสริมกลูตามีนที่ระดับ 1% มีผลต่อการเพิ่มความสูงวิลไลในลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัมและเจจูนัม อีกทั้ง Bartell and Batal (2007) รายงานว่าการเสริมกลูตามีนที่ระดับ 1 และ 4% สามารถเพิ่มความสูงของวิลไลในลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัม เจจูนัม และไอเลียมได้ ทั้งนี้เนื่องจากกลูตามีนเป็นกรดอะมิโนที่สำคัญของเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้ โดยเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญ และยังเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์พิวรีน และไพริมิดีน ซึ่งเป็นสารนิวคลีโอไทด์ที่มีหน้าสำคัญในการซ่อมแซมเซลล์ที่เกิดการเสื่อมสภาพ (Krebs, 1980; Windmueller and Spaeth, 1980; Miller, 1999) อย่างไรก็ตามในการทดลองครั้งนี้ พบว่าการเสริมกลูตามีนที่ระดับ 2 และ 3% มีผลต่อการลดความกว้างของวิลไล ($P<0.05$) ซึ่งสาเหตุยังไม่เป็นที่ทราบอย่างชัดเจน แต่อย่างไรก็การเสริมกลูตามีนที่ระดับ 1, 2, และ 3% ไม่ส่งผลกระทบต่อการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ นอกจากนี้ Soltan (2009) ซึ่งได้ทำการศึกษาหาผลของการเสริมกลูตามีนที่ระดับ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0% และพบว่ากลูตามีนที่ระดับ 1% มีประสิทธิภาพสูงสุดต่อการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโต และกระตุ้นการพัฒนาอวัยวะต่างๆ ในระบบทางเดินอาหาร และการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกัน ในขณะที่การเสริมที่ระดับมากกว่า 1% ส่งผลกระทบในเชิงลบต่อลักษณะต่างๆ ที่กล่าวมาข้างต้น

เมื่อนำกลูตามีนที่ระดับ 1% ไปขยายผลเพื่อศึกษาหาระยะเวลาการเสริมที่เหมาะสม คือเสริมเป็นระยะเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน ในไก่อายุ 0-42 วัน (การทดลองที่ 2) พบว่าการเสริมกลูตามีนในแต่ละช่วงเวลาให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในเกือบทุกพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา คือ สมรรถนะการเจริญเติบโต การสร้างภูมิคุ้มกัน และน้ำหนักของอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการย่อยอาหารและสร้างภูมิคุ้มกัน อย่างไรก็ตามในส่วนของลักษณะทางจุลภายวิภาคของลำไส้เล็ก พบว่าการเสริมกลูตามีนสามารถเพิ่มความกว้างของวิลไลในลำไส้เล็กส่วน ดูโอดีนัมที่อายุ 7 และ 14 วันได้ ($P<0.05$) แต่ไม่พบความแตกต่างดังกล่าวในไก่ช่วงอายุอื่น จากการรวบรวมเอกสาร Bartell and Batal (2007) รายงานว่า ในไก่ที่วิลไลมีการพัฒนาได้สมบูรณ์เร็วในช่วงแรกของชีวิต ไก่จะสามารถใช้ประโยชน์จากสารอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ และมีผลในการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตได้ นอกจากนี้ Lija (1983) รายงานว่า ในสัตว์ปีกสายพันธุ์ที่มีอัตราการเจริญเติบโตเร็ว พบว่าอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการย่อยอาหาร (digestive organ) และตับ มีการพัฒนาอย่างรวดเร็วในช่วงแรกของชีวิต โดยสัตว์ปีกที่มีอัตราการเจริญเติบโตเร็ว จะมีการหลั่งเอ็นไซม์ที่ช่วยย่อยอาหารในปริมาณสูง (Nistan et al., 1991) ซึ่งชี้ให้เห็นว่าอัตราการเจริญเติบโตของ

สัตว์ปีกในระยะแรก จะถูกจำกัดโดยการพัฒนาของอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการย่อยอาหาร หากสามารถร่นระยะเวลาในการพัฒนาอวัยวะดังกล่าวลงได้ สมรรถนะการเจริญเติบโตก็น่าที่จะเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้ ถึงแม้ว่าการเสริมกลูตามีนจะมีผลในการเพิ่มความกว้างของวิลไล ซึ่งน่าจะมีผลต่อเนื่องถึงสมรรถนะการเจริญเติบโตที่ควรจะเพิ่มขึ้น เนื่องจากมีการดูดซึมสารอาหารและใช้ประโยชน์ได้ของสารอาหารเพิ่มขึ้น แต่ไม่พบผลดังกล่าวแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในการทดลองครั้งนี้ แม้ว่าการเสริมกลูตามีนจะมีแนวโน้มในการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อก็ตาม โดยมีเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ปริมาณการกินอาหารลดลง และประสิทธิภาพการใช้อาหารเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 2.61, 2.67 และ 4.95% ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Bartell and Batal (2007) ที่รายว่าการเสริมกลูตามีนในระดับ 4% ถึงแม้จะมีผลในการเพิ่มความสูงวิลไล แต่ในทางตรงกันข้ามมีผลลดสมรรถนะการเจริญเติบโต ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าการเพิ่มความสูงวิลไลอาจไม่จำเป็นที่จะทำให้การใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ และสมรรถนะการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น

นอกจากนี้ การที่ผลการศึกษาทางด้านสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ ที่ได้รับอาหารเสริมกลูตามีนให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ($P>0.05$) อาจเนื่องจากการทดลองครั้งนี้ได้มีการควบคุมสภาพแวดล้อม มีการสุขาภิบาลที่ดี และไก่แต่ละคอกถูกเลี้ยงให้มีความหนาแน่นน้อย ดังนั้นอาจมีผลทำให้ไก่เกิดความเครียดที่น้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงแบบอุตสาหกรรมทั่วๆ ไป สอดคล้องกับการรายงานของ Yi et al. (2005) ที่ศึกษาการเสริมกลูตามีนในอาหารของสุกรหย่านมที่เลี้ยงในสภาวะแวดล้อมปกติ พบว่ากลูตามีนไม่มีผลต่อการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตของสุกร หย่านมเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่เมื่อให้สุกรได้รับเชื้อ *E. coli* $K88^+$ เข้าสู่ร่างกาย พบว่าสุกรที่ได้รับกลูตามีน สามารถเพิ่มความสูงของวิลไลที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัม เจจูนัม และไอเลียมได้เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับเชื้อ *E. coli* $K88^+$ เพียงอย่างเดียว เช่นเดียวกับสมรรถนะการเจริญเติบโตหลังจากได้รับเชื้อ *E. coli* $K88^+$ พบว่าสุกรในกลุ่มที่ได้รับเชื้อ *E. coli* $K88^+$ มีอัตราการเจริญเติบโตลดลง 50% และน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อปริมาณอาหารที่กินลดลง 49% แต่ในกลุ่มที่ได้รับเชื้อ *E. coli* $K88^+$ ร่วมกับกลูตามีน พบว่ามีการตอบสนองต่อเชื้อได้ดีขึ้น โดยมีอัตราการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ปราศจากเชื้อ ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่ากลูตามีนจะแสดงผลต่อการพัฒนาระบบทางเดินอาหาร และสมรรถนะการเจริญเติบโตได้อย่างชัดเจนก็ต่อเมื่อไก่ได้รับการเลี้ยงในสภาวะที่มีการเลี้ยงอย่างหนาแน่น เช่น ในระบบการเลี้ยงแบบอุตสาหกรรม ซึ่งไก่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อโรคได้ง่ายมาก โดยเฉพาะเชื้อโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหาร (Yi et al., 2005; Bartell and Batal, 2007)

สำหรับการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกัน พบว่าการเสริมกลูตามีนระดับสูง (3%) มีผลในการเพิ่มการพัฒนาการเจริญของม้าม (การทดลองที่ 1) แต่ไม่มีผลต่อการสร้างต่อมเบอร์ซาร์ และลำไส้ส่วนต่างๆ ซึ่งสอดคล้องกับ Sakamoto et al. (2006), Bartell and Batal (2007) รายงานว่าการ

เสริมกลูตามีน 1% สามารถเพิ่มการพัฒนาในส่วนของน้ำหนักม้ามและไทมัสได้ ตามปกติภูมิคุ้มกันของลูกไก่ในระยะฟักจะถูกพัฒนาขึ้นบางส่วนก่อน โดยต้นกำเนิดของเซลล์ในระบบน้ำเหลือง (Primary organs) คือ ต่อมไทมัสและต่อมเบอร์ซ่าร์ มีการพัฒนาขึ้นก่อน แต่ Secondary organs เช่น ม้าม ต่อมทอมซิลที่ซีกัม และต่อมน้ำเหลืองบริเวณลำไส้ยังพัฒนาไม่สมบูรณ์ (Dibner and Richards, 2004) ซึ่งกลูตามีนเป็นแหล่งพลังงานสำคัญในการใช้เป็นสารตั้งต้นเพื่อสร้างเซลล์เหล่านี้ (Soltan, 2009) ในการศึกษาในสุกรพบว่า กลูตามีนมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการสร้างอิมมูโนโกลบูลินชนิดเอที่ผนังลำไส้เล็ก ทำให้สามารถลดการดูดซึมสารพิษจากเชื้อ *E. coli* เข้าสู่ลำไส้ (Kitt el al., 2002; Zou et al., 2006) เช่นเดียวกับการทดลองของ Yu et al. (2002) ที่ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการเสริมกลูตามีนร่วมกับนิวคลีโอไทด์ในสุกรหย่านม แต่อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้ไม่พบผลของกลูตามีนต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันทั้งในซีรัมและลำไส้เล็ก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากไก่เนื้อถูกเลี้ยงในสภาพการจัดการที่ดีอยู่แล้ว จึงไม่พบความแตกต่างในการพัฒนาของระบบภูมิคุ้มกันเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม อีกทั้งในการทดลองนี้เป็นการวัดอิมมูโนโกลบูลินรวม อาจทำให้ไม่สามารถบ่งชี้การตอบสนองต่อกลูตามีนได้ดีเท่าที่ควร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 5
บทสรุป

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการเสริมกลูตามีนในอาหารไก่เนื้อ โดยศึกษาผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต การย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ การตอบสนองต่อภูมิคุ้มกัน และการพัฒนาของระบบทางเดินอาหาร สรุปได้ดังนี้

1. ระดับกลูตามีนที่เหมาะสมที่ควรเสริมในอาหารไก่เนื้อ คือ ที่ระดับ 1%

2. กลูตามีนสามารถกระตุ้นการพัฒนาเซลล์ในระบบทางเดินอาหาร ในส่วนความกว้างวิลไลบริเวณลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัมของไก่เนื้ออายุ 7 และ 14 วัน ได้

3. กลูตามีนมีบทบาทในการพัฒนาอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการสร้างภูมิคุ้มกัน แต่ไม่พบผลในการกระตุ้นการตอบสนองของอิมมูโนโกลบูลินทั้งในซีรัมและลำไส้เล็ก

4. การเสริมกลูตามีนในอาหารไก่เนื้อไม่ส่งผลกระทบต่อการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ รวมถึงกลูตามีนให้ผลต่อน้ำหนักตัว ปริมาณอาหารที่กินต่อวัน และประสิทธิภาพการใช้อาหารของไก่เนื้ออายุ 0-42 วัน ไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาการเสริมกลูตามีนในอาหารไก่เนื้อแสดงให้เห็นว่า ผลการทดลองส่วนใหญ่จะส่งผลดีต่อไก่เนื้อหลังจากได้รับการเสริมกลูตามีนในช่วงอายุ 0-14 วัน ดังนั้นการเสริมกลูตามีนในอาหารไก่เนื้อเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด จึงควรพิจารณาเสริมในช่วงอายุดังกล่าว ซึ่งเป็นระยะที่ไก่ยังมีการพัฒนาระบบต่างๆ ของร่างกายไม่สมบูรณ์ และได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่างๆ ได้ไวมากที่สุด

บรรณานุกรม

กระสินธ์ นพรัตน์ไมตรี. (2551). ผลของสมุนไพรฟ้าทลายโจรและไพลต่อสมรรถนะการผลิต การย่อยได้ของโภชนะ และสุขภาพในลูกสุกรหย่านม. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พัชรี บุญศิริ, เปรมใจ อารีจิตรานุสรณ์, อุบล ชาอ่อน และปีติ ธุวจิตต์. (2551). ตำราชีวเคมี. พิมพ์ครั้งที่ 5. ขอนแก่น: คลังปัญญา.

สมชัย พงศ์จรรยากุล. (2529). จุลกายวิภาคศาสตร์ทางสัตวแพทย์ (เซลล์และเนื้อเยื่อ). คณะสัตวแพทยศาสตร์: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ, วิบูลย์ศรี พิบลพันธุ์, นภาธร บานชื่น, ทัศนีย์ สุโกศล, ธารารัชต์ ธารากุล, ศันสนีย์ เสนะวงษ์ และสิริฤกษ์ ทรงศิริวิไล. (2542). อิมมูโนวิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: พีเอสซายน์เทคนิคัล.

Alpers, D.H. (2006). Glutamine: do the data support the cause of glutamine supplementation in humans? Gastroenterology: 106-116.

AOAC. (1990). Official methods of analysis (15th ed.). Association of Analytical Chemists. Washington, DC.

Bartell, S.M. and Batal, A.B. (2007). The effect of supplemental glutamine on growth performance, development of the gastrointestinal tract, and humoral immune response of broiler. J. Poult. Sci. 86: 1940-1947.

Calder, P.C. and Yaqoob, P. (1999). Glutamine and the immune system. J. Amino Acids. 17: 227-241.

Carstensen, L., Annette, K.E., Karin, H.J. and Jens, P.N. (2005). Escherichia coli post-weaning diarrhea occurrence in piglets with monitored exposure to creep feed. Vet. Micro. 110: 113-123.

Dharmananda, S. (2008). Amino acid supplement I: Glutamine [Online]. Available: www. itmonline.org/arts/glutamine.html

Dibner, J.J. and Richards, J.D. (2004). The digestive system: challenges and opportunities. J. Appl. Poult. Res. 13: 86-93.

Engle, T.E., Spears, J.W., Brown Jr, T.T., and Lloyd, K.E. (1999). Effect of breed (Angus vs. Simmental) on immune function and response to a disease challenge in stressed steers and preweaned calves. J. Anim. Sci. 77: 516-521.

Fischer da Silva, A.V., Maiorka, A., Borges, S.A., Santin, E., Boleli, I.C. and Macari, M. (2007). Surface area of the tip of the enterocytes in small intestine mucosa of broilers submitted to early feed restriction and supplemented with glutamine. Int. J. Poult. Sci. 6: 31-35.

Frederick, H., Martini, E. and Bartholomew, F. (1997). Essentials of anatomy and physiology. U.S.A: Prentice-Hall Inc.

Hartke, J.L., Monaco, M.H., Wheeler, M.B. and Donovan, S. M. (2005). Effect of a short-term fast on intestinal disaccharidase activity and villus morphology of piglets suckling insulin-like growth factor-I transgenic sows. J. Anim. Sci. 83: 2404-2413.

Hedemann, M.S., Mikkelsen, L.L., Naughton, P.G. and Jensen, B.B. (2006). Effect of feed particle size and feed processing on morphological characteristics in the small and large intestine of pigs and on adhesion of Salmonella enterica serovar Typhimurium DT12 in the ileum in vitro. J. Anim Sci. 83: 1554-1562.

Izat, A.L., Thomas, R.A. and Adams, M.H. (1989). Effects of dietary antibiotic treatment on yield of commercial broilers. Poult. Sci. 68: 651-655.

Johnson, I.R., Ball, R.O., Baracos, V.E. and Field, C.J. (2006). Glutamine supplementation influences immune development in the newly weaned piglet. Dev. Comp. Immunol. 30: 1191-1202.

Lija, C. (1983). A comparative study of postnatal growth and organ development in some species of birds. Growth, 47: 317-339.

Kandil, H.L., Argenzio, R.A., Chen, W., Berschneider, H.M., Stiles, A.D., Westwich, J.K., Rippe, R.A., Brenner, D.A. and Rhods, J.M. (1995). L-glutamine and L-asparagine stimulate ODC activity and proliferation in a porcine jejunum enterocyte line. Physiol. 269: 591-599.

Kitt, S.J., Miller, P.S., Lewis, A.J. and Fischer, R.L. (2002). Effects of glutamine on growth performance and small intestine villus height in weanling pigs. Lincoln: University Nebraska.

Krebs, H. (1980). Glutamine metabolism in the animal body. In Glutamine: metabolism, enzymology, and regulation. New York, Academic Press.

Maiorka, A., Slila, A.V.F., Santin, E., Borges, S.A., Boleli, I.C. and Macari, M. (2000). Influence da suplementacao de glutamine sobre o desempenho e o desenvolvimento de vilos e criptas do intestine delgado de frangos. Arq. Bras. Med. Vet. Zoot. 52: 487-490.

Miller, A.L. (1999). Therapeutic considerations of L-glutamine: a review of the literature. Altern. Med. Rev. 4: 239–248.

Morse, R. (1999). Biochemistry [Online]. Available: www.library.csi.cuny.edu/.../lect23/lect23.html

Murakami, A.E., Sakamoto, M.I., Natali, L.M.G., Souza, L.M.G. and Farnco, J.R.G. 2007. Supplementation of glutamine and vitamin E on the morphometry of the intestinal mucosa in broiler chickens. Poult. Sci. 86: 488-495.

Nitsan, Z.G., Avraham, B., Zoref, Z. and Nir, I. (1991). Organ growth and digestive enzymes levels to fifteen days of age in lines of chickens differing in body weight. Poult. Sci. 70: 2040-2048.

SAS Institute. (1996). SAS User's Guide : Statistics®. SAS Institute Inc. Cary, NC.

National Research Council. 1994. Nutrient Requirement of Poultry. 9th rev. ed. National Academy Press. Washington, DC.

Roth, E. (2008). Nonnutritive effects of glutamine. J. Nutr. 138(10): 2025-2030.

Reeds, P. J. and Burrin, D. G. (2001). Glutamine and the bowel. J. Nutr. 131: 2505-2508.

Sakamoto, M.F., Murakami, A.E., Silveira, T.G.V., Fernandes, J.I.M and de Oliveira, C.A.L. (2007). Influence of glutamine and vitamine E on the performance and the immune responses of broiler chickens. Brazilian J. Poult. Sci. 8: 243-249.

Soltan, M.A. (2009). Influence of dietary glutamine supplementation on growth performance, small intestinal morphology, immune response and some blood parameters of broiler chickens. Int. J. Poult. Sci. 8: 60-68.

Sornsuvit, C. (2007). Parenteral glutamine peptide supplementation in acute myeloid leukemia patients receiving chemotherapy: effects on neutrophil function, prevention of chemotherapy-induced side-effects and impact on cost effectiveness. Ph.D. Thesis (Nutrition). Mahidol University.

Tapiero, H., Mathe, G., Couvreur, P., Tew, K.D. (2002). II. glutamine and glutamate. Biomed Pharmacother 56: 446-457.

Windmueller, H.G. and Spaeth, A.E. (1980). Respiratory fuels and nitrogen metabolism *in vivo* in small intestine of fed rats: Quantitative importance of glutamine, glutamate, and aspartate. J. Biol. Chem. 255: 107-112.

Wu, G., Thompson, J.R. and Baracos, V.E. (1991). Glutamine metabolism in skeletal muscles from the broiler chick (*Gallus domesticus*) and the laboratory rat (*Rattus norvegicus*). Biochem. J. 274: 769-774.

Yi, G.F., Carroll, J.A., Allee, G.L., Gaines, A.M., Kendall, D.C., Usry, J.L., Toride, Y. and Izuru, S. (2005). Effect of glutamine and spray-dried plasma on growth performance, small intestinal morphology, and immune responses of Escherichia coli K88+. challenged weaned pigs. J. Anim Sci. 83: 634-643.

Yi, G.F., Allee, G.L., Frank, J.W., Spencer, J.D and Touchette, K.J. (2001). Impact of glutamine, menhaden fish meal, and spray-dried plasma on the growth and intestinal morphology of broilers. Poult. Sci. 80(Suppl. 1): 201. (Abstr.)

Yu, I.T., Wu, J.F., Yang, P.C., Liu, C.Y., Lee, D.N. and Yen, H.T. (2002). Roles of glutamine and nucleotides in combination in growth, immune responses and FMD antibody titers of weaned pigs. Br. J. Anim Sci. 75: 379-385.

Zou, X.T., Zheng, G.H., Fang, X.J. and Jiang, J.F. (2006). Effects of glutamine on growth performance of weanling piglets. Czech. J. Anim. Sci. 51: 444-448.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาคผนวก

Influence of Supplemental Glutamine on Nutrient Digestibility and Utilization, Small Intestinal Morphology and Gastrointestinal Tract and Immune Organ Developments of Broiler Chickens

Sutisa Khempaka, Supattra Okrathok, Laddawan Hokking, Buntita Thukhanon and Wittawat Molee

***Abstract*—**This study was conducted to investigate the optimum levels of glutamine (Gln) supplementation in broiler diets. A total of 32 one-day-old male chicks with initial body weight 41.5 g were segregated into 4 groups (8 chicks per group) and subsequently distributed to individual cages. Feed and water were provided *ad libitum* for 21 days. Four dietary treatments were as follows: control and supplemented Gln at 1, 2 and 3%, respectively. The results found that the addition Gln had no negative effects on dry matter, organic matter, ash digestibility or nitrogen retention. Birds fed with 1% Gln had significantly higher villi wide and villi height : crypt depth ratio in duodenum than the control chicks and 2 and 3% Gln chicks. It is suggested that the addition of Gln at 1% indicated a beneficial effect on improving small intestinal morphology, in addition Gln may stimulate immune organ development of broiler chickens.

***Keywords*—**broiler chicken, digestibility, gastrointestinal tract glutamine, glutamine

I. Introduction

DUE to the ban on the use of antibiotics as growth promoters to improve growth performance and to control diseases in poultry feed, there have been numerous problems leading to depressed growth performance and an increased the incidence of disease. The supplementation of glutamine (Gln) is an alternative feed additive that should be studied in broiler diets. Glutamine is the most prevalent amino acid in the bloodstream, accounting for 30-35% of the amino acid N in the plasma and in the free amino acid pool in the body [1].

S. K. is a lecturer of School of Animal Production Technology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand (phone: 66-81-6590650; fax: 66-4422-4376; e-mail: khampaka@sut.ac.th).

S.O. is an graduate student of School of Animal Production Technology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand (e-mail: s.okrathok@gmail.com)

L.H. is an graduate student of School of Animal Production Technology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand (e-mail: wan_animal@hotmail.com)

B.T. is an graduate student of School of Animal Production Technology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand (e-mail: b.thukhanon@gmail.com)

W. M. is a lecturer of School of Animal Production Technology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand (e-mail: wittawat@sut.ac.th).

Numerous literatures reported that Gln is the principle metabolic fuel for small intestine enterocytes, lymphocytes, macrophages and fibroblasts and is considered an essential amino acid in some species under inflammatory conditions [2], [3]. Many benefits have been observed due to Gln supplementation in the diet of humans and rats, however, little research has been done with poultry. Therefore, this study was aimed to investigate the effect of Gln supplementation on nutrient digestibility and retention, small intestinal morphology and gastrointestinal tract and immune organ developments of broiler chickens.

II. Materials and Methods

A total of 32 one-day-old male chicks with initial body weight 41.5 g were segregated into 4 groups (8 chicks per group) and subsequently distributed to individual cages. Feed and water were provided *ad libitum* for 21 days. Four dietary treatments were as follows: control and supplemented Gln at 1, 2 and 3%, respectively (Table 1). All nutrients were formulated to meet or exceed the minimum NRC [4] requirements for broiler chickens.

Excreta were collected on 18 to 21 days of age. The excreta were sprayed with 5% HCl and dried at 55^{o}C. Dried excreta were stored at -20^{o}C for later analyses. DM, organic matter and N in the diets and excreta were measured to assess their digestibilities and retention according to standard methods [5]. At the end of the experiment, the birds were weighed and killed by cervical dislocation and then the abdominal cavity was open. The thymus and spleen were removed and weighed. For intestinal weight measurements, the small intestine was removed and divided into 3 segments: duodenum, jejunum and ileum. The ileum was flushed with 10 to 20 ml of deionized water and the empty weight was recorded. While duodenum and jejunum were flushed with 20 ml saline solution and the empty weigh was recorded. Organ weights were expressed on a weight relative to live body weight (g/100g of BW). For morphologic analysis, approximately 5 cm of the middle portion of the duodenum and jejunum was excised and fixed with 10% formalin. The cross sections of 70% ethanol-preserved segments for each duodenal and jejuna sample were

TABLE I
COMPOSITION OF THE EXPERIMENTAL DIETS (AS FED BASIS)

Item	Control	Glutamine levels (%) 1	2	3
Ingredients, %				
Corn	48.64	47.06	47.06	46.17
Soybean meal	28.65	28.72	28.72	28.84
Fish meal	9.00	9.00	9.00	9.00
Rice bran	5.00	5.00	5.00	5.00
Cassava starch	3.00	2.00	1.00	0.00
Soybean oil	3.10	3.86	4.60	5.36
Salt	0.25	0.25	0.25	0.25
DL-Methionine	0.26	0.27	0.27	0.28
Glutamine	0.00	1.00	2.00	3.00
Calcium carbonate	0.06	0.60	0.60	0.60
Dicalcium phosphate	1.00	1.00	1.00	1.00
Premix[1]	0.50	0.50	0.50	0.50
Calculated composition, %				
AME, kcal/kg	3102	3102	3102	3102
Met + Cys	0.90	0.90	0.90	0.90
Lys	1.20	1.20	1.20	1.20
Ca	1.02	1.02	1.02	1.02
Available P	0.62	0.62	0.62	0.62
Analyzed composition, %				
DM	92.06	92.29	92.22	92.51
CP	21.43	22.36	22.37	24.13
CF	2.91	2.80	2.84	2.90
EE	6.39	7.21	7.31	8.75

[1]Premix (0.5%) provided the following per kilogram of diet: vitamin A, 15,000 IU; vitamin D_3, 3,000 IU; vitamin E, 25 IU; vitamin K_3, 5 mg; vitamin B_1, 2.5 mg; vitamin B_2, 7 mg; vitamin B_6, 4.5 mg; vitamin B_{12}, 25 µg; pantothenic acid, 35 mg; folic acid, 0.5 mg; biotin, 25 µg; nicotinic acid, 35 mg; choline chloride, 250 mg; Mn, 60 mg; Zn, 45 mg; Fe, 80 mg; Cu, 1.6 mg; I, 0.4 mg; Se, 0.15 mg.

then prepared for staining with hematoxylin and eosin using standard paraffin embedding procedures [6].

Data were analyzed by ANOVA and using SPSS version 13.0 [7]. Significant differences among treatment were assessed by Duncan's new multiple range-test.

III. Results

Nutrient digestibility and retention of broiler chickens fed with Gln is presented in Table 2. The results found that Gln had no negative effects on dry matter, organic matter and ash digestibility and N retention. Although these values were numerically decreased with increasing Gln in diets but there were not statistically differences (P>0.05). The percentages of dry matter (DM), ash and organic matter digestibility and N retention were 74.01, 72.60, 72.55 and 69.83%; 38.88, 38.90, 38.52 and 38.32; 77.80, 75.92, 72.55 and 67.52, 66.70, 66.07 and 64.40% in broilers fed control and supplemented with 1, 2 and 3% Gln, respectively.

TABLE II
EFFECT OF GLUTAMINE SUPPLEMENTATION ON NUTRIENT DIGESTIBILITY AND RETENTION[1]

	Control	Glutamine levels (%) 1	2	3
DM (%)	74.01	72.60	72.55	68.83
Ash (%)	38.88	38.90	38.52	38.32
OM (%)	77.80	75.92	72.55	68.83
N retention (%)	67.52	66.70	66.07	64.40

[1] Values for each parameter represent mean values of 8 observations

The effect of Gln on digestive and immune organ relative weights of broilers is summarized in Table 3. The data revealed that Gln supplementation had no effect on bursa, small intestine and cecum relative weights of broilers (P>0.05). While the spleen relative weight was significantly heavier with the addition of 3% Gln compared with the control and 1 to 2% Gln diets. The weights of spleen (g/100g BW) were 0.12, 0.09, 0.11 and 1.99 in broilers fed with control and supplemented with 1, 2 and 3% Gln, respectively.

TABLE III
EFFECT OF GLUTAMINE SUPPLEMENTATION ON DIGESTIVE AND IMMUNE ORGAIN WEIGHTS OF BROILERS (G/100G BW)[1]

	Control	Glutamine levels (%) 1	2	3	SEM
Spleen	0.12[b]	0.09[b]	0.11[b]	1.99[a]	0.0553
Bursa	0.24	0.21	0.28	0.32	0.0541
Duodenum	1.16	0.96	0.88	0.97	0.1131
Jejunum	1.69	1.50	1.48	1.58	0.1422
Ileum	1.33	1.27	1.24	1.22	0.0722
Ceca	1.24	0.73	0.81	0.69	0.1855

[a, b] Means with different superscripts in a row are significantly different (P<0.05)
[1] Values for each parameter represent mean values of 2 observations

Glutamine supplementation in diets did not affect the villi height and crypt dept both in duodenum and jejunum of broilers (P>0.05) (Table 4). The values of villi height in the duodenum and jejunum were 331, 449, 248, 180 µm and 257, 552, 333 and 320 µm in broilers fed control and supplemented with 1, 2 and 3% Gln, respectively. The values of crypt dept in duodenum and jejunum were 125, 132, 124 and 102 µm, and 93, 107, 97 and 98 µm in broilers fed control and supplemented with 1, 2 and 3% Gln, respectively. While the birds fed diets supplemented with 1% Gln had significantly higher villi width in the duodenum than control and 2 to 3% Gln birds. The values of villi width in the duodenum were 86, 92, 68 and 51 µm in broilers fed control and supplemented with 1, 2 and 3% Gln respectively, in which the addition of 2 and 3% Gln resulted in decreased villi width (P<0.05). However, the addition of Gln had no negative effect on decreased villi width in jejunum. The ratio of villi height : crypt dept in duodenum were increased according with the villi width. These ratios increased in 1% Gln but decreased in 2 and 3% Gln when compared to control birds (P<0.05). However, the ratios of villi height : crypt dept were not significantly in jejunum. The values of villi height : crypt dept ratio in the duodenum and jejunum were 2.7, 3.4, 2.0, 1.8 and 2.7, 5.0, 3.4, 3.0 in broilers fed control and supplemented with 1, 2 and 3% Gln, respectively.

IV. Discussion

This study found that the addition of Gln at 1% showed the highest efficacy without any negative effects on dry matter, organic matter, ash digestibility or nitrogen retention. Birds fed with 1% Gln had significantly higher villi width and villi height : crypt depth ratio in duodenum than the control chicks. This finding according to many previous studies indicated the same effect of Gln supplementation in broiler chick diets on increased villi height in small intestine [8]-[10]. In addition,

TABLE IV
EFFECT OF GLUTAMINE SUPPLEMENTATION ON SMALL INTESTINAL MORPHOLOGY[1,2]

Item	Control	Glutamine levels (%) 1	2	3	SEM
Villi height (µm)					
Duodenum	331	449	248	180	63.5418
Jejunum	257	552	333	320	99.21
Crypt depth (µm)					
Duodenum	125	132	124	102	17.9529
Jejunum	93	107	97	98	16.6100
Villi wide (µm)					
Duodenum	86[b]	92[a]	68[c]	51[d]	1.5116
Jejunum	99	102	88	81	11.3400
Villi height : Crypt depth					
Duodenum	2.7[b]	3.4[a]	2.0[c]	1.8[c]	0.0075
Jejunum	2.7	5.0	3.4	3.0	0.5408

[a-d] Means with different superscripts in a row are significantly different ($P<0.05$)
[1] Values for each parameter represent mean values of 2 observations
[2] Small intestine sample of each treatment was taken from chickens aged 21 days

Bartell and Batal [11] also reported a beneficial effect of Gln on increased intestinal villi height when Gln was added to diets at 1 and 4%. Because Gln is an amino acid important for utilization as energy source for the development of mucosa and stimulate intestinal cell proliferation, thus it increasing the absorptive surface of gastrointestinal mucosa and the utilization of nutrients [11]. However, broilers fed diets supplemented with 2 and 3% Gln had a significantly lower intestinal villi width than the broilers fed control and 1% Gln diets. This phenomenon is still not clear. Soltan [10] investigated the effect of Gln supplementation at 0.5, 1.0, 1.5 and 2% in broiler diets and concluded that the addition of 1% Gln can be improved growth performance and may stimulate the development of gastrointestinal tract and immune response, while higher level had negative effects. Normally, if the intestinal villi height can be increased early in the chick's life, then the chick may be able to utilize nutrients more efficiently earlier in life and thus have improved growth performance [11]. In addition, Nitsan et al. [12] also stated that birds with a faster growth rate have a high capability to secrete high levels of enzymes, implying that initial growth is only limited by the early development of the digestive organs, therefore, reducing the time for development of digestive organs, growth improvements could be achieved. Even though the birds fed with 1% Gln has increased villi width in comparison with the control or 2 and 3% Gln, nutrient digestibility and retention were not significantly different among treatments. This may be due to the fact that all dietary nutrients are balance and are sufficient for broiler requirements, or it could also suggest that increased villi width does not necessarily lead to increased nutrient utilization.

Immune tissue development is the basis of immune functionality. The supplementation of Gln at levels of 3% significantly promoted the growth of the spleen but had no effect on the bursa weight. These findings are in agreement with the previous studies which reported the improvement of spleen and thymus weights in broiler chicks fed on diets supplemented with Gln [10], [11], [13]. Glutamine is also the precursor for the net synthesis of arginine, which has been shown to increase thymus and spleen size in mice [14] increase cytokine production and enhance lymphocyte proliferation [15].

Based on the above studies it is suggested that the addition of Gln 1% indicated the most advantageous on improving small intestine morphology. In addition Gln may stimulate immune organ development of broiler chickens. This finding may be useful for newborn chicks, since their system, especially digestive and immune system is not fully developed and the chicks are more susceptible to disease or likely to be negatively impacted by their environment.

ACKNOWLEDGMENT

We gratefully acknowledge the financial support of The National Research Council of Thailand and Suranaree University of Technology.

REFERENCES

[1] E. A. Newsholme, B. Crabtree, and M. S. Ardawi, "Glutamine metabolism in lymphocytes: its biochemical, physiological and clinical important", *Q. J. Exp. Physiol.*, vol. 70, pp. 473-489, 1985.
[2] F. J. Andrews, and R. D. Griffiths, "Glutamine: essential for immune nutrition in the critically ill", *Br. J. Nutr*., vol. S1, pp. 3-8, 2002.
[3] P. Newsholme, "Why is L-glutamine metabolism important to cells of the immune system in health post-immune, surgery, or infection?", *J. Nutr*. vol. 131, pp. 2515-2522.
[4] NRC, "Nutrient Requirements of Poultry", 9th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC., 1994.
[5] AOAC, "Association of Official Analytical Chemists", 14th ed. Washington, D.C., 1990.
[6] Z., Uni, Y. Noy, and D. Sklan, "Posthatch changes in morphology and function of the small intestines in heavy- and light-strain chicks", *Poult. Sci*., vol. 74, pp. 1622-1629, 1995.
[7] SPSS, "User's Guide", Version 13.0 SPSS Inc., Chicago, IL., 2004.
[8] A. E. Murakami, M. I. Sakamoto, M. R. M. Natali, L. M. G. Souza, and J. R. G. Farnco, "Supplementation of glutamine and vitamin E on the morphology of the intestinal mucosa in broiler chickens", *Poult. Sci*., vol. 86, pp. 488-495, 2007.
[9] G. F. Yi, G. L. Allee, J. W. Frank, J. D. Spencer, and K. J. Touchette, "Impact of glutamine, menhaden fish meal, and spray-dried plasma on the growth and intestinal morphology of broilers", *Poult. Sci*., vol. 80 (supple. 1), pp. 201 (Abstr.), 2001.
[10] M. A. Soltan, "Influence of dietary glutamine supplementation on growth performance, small intestinal morphology, immune response and some blood parameters of broiler chickens", *Inter. J. Poult. Sci*., vol. 8(1), pp. 60-86, 2009.
[11] S. M. Bartell, and A. B. Batal, "The effect of supplemental glutamine on growth performance, development of the gastrointestinal tract and immune response of broilers", *Poult. Sci.*, vol. 86, pp. 1940-1947, 2007.
[12] Z. G. Nitsan, B. Avraham, Z. Zoref, and I. Nir, "Organ growth and digestive enzymes levels to fifteen days of age in lines of chickens differing in body weight", *Poult. Sci.*, vol. 70, pp. 2040-2048, 1991.
[13] M. I. Sakamoto, A. E. Murakami, T. G. V. Silveira, J. I. M. Fernandes and C. A. L. Oliveira, "Influence of glutamine and vitamin E on the performance and the immune response of broiler chickens", *Brazilian J. Poult. Sci*., vol. 8, pp. 243-249, 2006.
[14] A. A. Adjei, Y. Matsumoto, T. Oku, Y. Hiroi and Y. Yamamoto, "Dietary agrinine and glutamine combination improves survival in septic mice", Nutr. Res., vol. 14, pp. 1591-1599, 1994.
[15] J. V. Reynolds, J. M. Daly, and S. Zhang, "Immunomodulatory mechanism of arginine", *Surg*., vol. 104, pp. 141-151, 1988.

ประวัตินักวิจัย

Name : Sutisa Khempaka (Ph.D.)

Position : Lecturer

Address : School of Animal Production Technology
Institute of Agricultural Technology
Suranaree University of Technology
Nakhon Ratchasima 300000, Thailand
Tel. (66 44) 224572 Fax (66 44) 224150
E- mail: khampaka@sut.ac.th

Date of Birth : September 14, 1975

Place of Birth : Surin

Education :

B.Sc. (1998) Animal Science (First Honor), Ubon Ratchathanee University, Thailand

M.Sc. (2002) Animal Nutrition, Khon Kaen University, Thailand

Ph.D. (2006) Animal Nutrition and Feed Science, Gifu University, Japan

Work Experience :

2002 - present : Lecturer, School of Animal Production Technology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology, Thailand

Papers published in international and national journals

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

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

Khempaka, S., W. Molee, and M. Guillaume. 2009. Dried cassava pulp as an alternative feedstuffs for broilers: effect on growth performance, carcass traits, digestive organs and nutrient digestibility. J. Appl. Poult. Res. 18: 487-493.

Thongkratok, R., **S. Khempaka**, and W. Molee. 2010. Protein enrichment of cassava pulp using microorganisms fermentation techniques for use as an alternative animal feedstuff. J. Anim. Vet. Adv. 9(22): 2859-2862.

Khempaka, S., C. Chitsatchapong, and W. Molee. 2011. Evaluation of chitin and protein constituents in shrimp meal on growth performance, nutrient digestibility, intestinal microbial populations, volatile fatty acids and ammonia production in broilers. J. Appl. Poult. Res. 20: 1-11.

Pudpila, U., **S. Khempaka**, W. Molee, and C. Hormta. 2011. Comparison of distillation methods of *Mentha cordifolia* Opiz. essential oil on antibacterial activity for application use in animal feeds. J. Agri. Sci. and Tech A. 1336-1340.

จรณี จิตสัจจพงศ์ วิทธวัช โมพี และ**สุทิศา เข็มผะกา**. 2552. ผลของการเสริมเปลือกกุ้งป่นในอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต คุณภาพซาก และการตอบสนองภูมิคุ้มกันของไก่เนื้อ. วารสารแก่นเกษตร. 37 (4): 331-338.

เอกพล พูนชัย **สุทิศา เข็มผะกา** วิทธวัช โมพี และจักร์ โนจากุล. 2553. บทบาทของกลูตามีนต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต การตอบสนองต่อภูมิคุ้มกัน และการพัฒนาระบบทางเดินอาหารสุกรหย่านม. วารสารแก่นเกษตร. 38 (1): 39-46.

Papers published in international conferences

Khempaka, S., M. Mochizuki, K. Koh, and Y. Karasawa. 2005. Effects of shrimp meal on growth performance, digestibility, nitrogen retention and meat color in growing broilers. Japanese Poultry Science Association, Spring Meeting 2005. Tokyo, Japan.

Khempaka, S., K. Koh, and Y. Karasawa. 2005. Growth performance, digestibility and nitrogen retention in growing broiler given diets containing 4 to 16% of shrimp meal. Japanese Poultry Science Association, Autumn Meeting 2005. Kumamoto, Japan.

Khempaka, S., K. Koh, and Y. Karasawa. 2006. High calcium content in shrimp meal had little effect on growth performance in growing broilers. Japanese Poultry Science Association, Spring Meeting 2006. Fukuoka, Japan.

Khempaka, S., K. Koh, and Y. Karasawa. 2007. The *in vitro* measurement of dry matter and crude protein digestibilities of shrimp meal. First International Conference on Sustainable Animal Agriculture in Developing Countries, Kunming Yunnan, China.

Khempaka, S., W. Molee, R. Thongkratoke, C. Chitsatchapong, and E. Poonchai. 2008. Fermentation of cassava pulp with *Aspergillus oryzae* and *Candida utilis* for improved nutrients as an alternative feedstuff for animals. The 13th Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies. September 22-26, 2008. Hanoi, Vietnam.

Khempaka, S., and W. Molee. 2008. Effect of cassava pulp on growth performance and digestibility in broilers. The 13th Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies. September 22-26, 2008. Hanoi, Vietnam.

Khempaka, S., C. Chitsatchapong, and W. Molee. 2009. Measurement of chitin efficiencies on growth performance and ammonia production in broilers. The 2nd International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries, November 8-11, 2009. Kuala Lumpur, Malaysia.

Chisatchapong, C., **S. Khempaka**, W. Molee, and C. Homta. 2009. Effect of chitin constituent in shrimp meal on nutrient digestibility, hematology and immune response in broilers. The 2nd International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries. November 8-11, 2009. Kuala Lumpur, Malaysia.

Thongkratok, R., **S. Khempaka**, W. Molee, and C. Homta. 2009. Evaluation of fermented cassava pulp on growth performance and nutrient digestibility in broilers. 2009. The 2nd International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries. November 8-11, 2009. Kuala Lumpur, Malaysia.

Poonchai, E., **S. Khempaka**, W. Molee, and J. Nojakul. 2009. Effect of glutamine supplementation on growth performance and intestinal microbial population of weaned pigs. The 2nd International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries. November 8-11, 2009. Kuala Lumpur, Malaysia.

Khempaka, S., N. Chaiyasit, and W. Molee. 2010. Effect of dietary shrimp meal on microbial populations and ammonia production in broilers administered with *Lactobacillus* spp. and *Bacillus* spp. The 14th Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies. August 23-27, 2010. Pingtung, Taiwan, Republic of China.

Molee, W., **S. Khempaka**, C. Chitsatchapong and P. Puttaraksa**.** Effects of dietary Tuna Oil on growth performance and fatty acid composition of meat in Thai Native Chickens**.** The 14th

Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies. August 23-27, 2010. Pingtung, Taiwan, Republic of China.

Pudpila, U., **S. Khempaka**, W. Molee, and C. Hormta. 2011. Comparison of distillation methods of *Mentha cordifolia* Opiz. essential oil on antibacterial activity for application use in animal feeds. The 3rd International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries. July 26-29, 2011. Nakhon Ratchasima, Thailand.

Suriyawong, T., **S. Khempaka**, W. Molee, and C. Hormta. 2011. The *In Vitro* evaluation of non-starch polysaccharide digestibility of cassava pulp using xylanase enzyme. The 3rd International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries. July 26-29, 2011. Nakhon Ratchasima, Thailand.

Khempaka, S., and K. Koh. 2011. Effect of covering with acidified sawdust on ammonia volatilization during composting of poultry manure. The 3rd International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries. July 26-29, 2011. Nakhon Ratchasima, Thailand.

Chaokaur, A., **S. Khempaka**, T. Matsumoto, J. Takahashi. and T. Nishida. 2011. Effect of ruminal dosing of mechanical stimulating brush on methane emission from rumen in dry cows. The 3rd International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries. July 26-29, 2011. Nakhon Ratchasima, Thailand.

Khempaka, S., S. Okrathok, L. Hokking, B. Thuhanon, and W. Molee. 2011. Influence of supplemental glutamine on nutrient digestibility and utilization, small intestinal morphology and gastrointestinal tract and immune organ developments of broiler chickens. World Academy of Science, Engineering and Technology. August 24-26, 2011. Paris, France.