ผลของการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหารไก่ ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต
การทำงานของเอนไซม์ช่วยย่อย และสุขภาพของทางเดินอาหาร

นางสาวกานต์อนุช วสุนธรารักษ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเภสัชวิทยาทางสัตวแพทยศาสตร์ ภาควิชาเภสัชวิทยา
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2556

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the Graduate School.

EFFECTS OF DIETARY SUPPLEMENTATION OF LEMONGRASS OIL ON GROWTH PERFORMANCE, DIGESTIVE ENZYME ACTIVITY AND GUT HEALTH IN CHICKENS

Miss Kananuch Vasuntrarak

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Veterinary Pharmacology
Department of Pharmacology
Faculty of Veterinary Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2013

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหารไก่ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต การทำงานของเอนไซม์ช่วยย่อย และสุขภาพของทางเดินอาหาร
โดย	นางสาวกานต์อนุช วสุนธรารักษ์
สาขาวิชา	เภสัชวิทยาทางสัตวแพทยศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ภญ.ดร. สุพัตรา ศรีไชยรัตน์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ศาสตราจารย์ น.สพ.ดร. จิโรจ ศศิปรียจันทร์

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ น.สพ.ดร. มงคล เตชะกำพุ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร. ปิยะรัตน์ จันทร์ศิริพรชัย)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ ภญ.ดร. สุพัตรา ศรีไชยรัตน์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ศาสตราจารย์ น.สพ.ดร. จิโรจ ศศิปรียจันทร์)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ น.สพ.ดร. กฤษ อังคนาพร)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร. กาญจนา อิ่มศิลป์)

กานต์อนุช วสุนธรารักษ์ : ผลของการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหารไก่ ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต การทำงานของเอนไซม์ช่วยย่อย และสุขภาพของทางเดินอาหาร . (EFFECTS OF DIETARY SUPPLEMENTATION OF LEMONGRASS OIL ON GROWTH PERFORMANCE, DIGESTIVE ENZYME ACTIVITY AND GUT HEALTH IN CHICKENS) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ.ภญ.ดร. สุพัตรา ศรีไชยรัตน์, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : ศ.น .สพ.ดร. จิโรจ ศศิปรียจันทร์, 98 หน้า.

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้น้ำมันตะไคร้แกงเป็นวัตถุเติมในอาหารไก่ แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 เป็นการศึกษาเบื้องต้นที่ทดลองในไก่ไข่เพศเมีย พันธุ์ Babcock B-380 จำนวน 52 ตัว แบ่งออกเป็น 4 กลุ่มการทดลอง กลุ่มที่ 1 คือกลุ่มควบคุม ได้รับอาหารพื้นฐาน กลุ่มที่ 2, 3 และ 4 ได้รับอาหารที่มีการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100, 200 และ 400 มก./กก. ตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่าไก่กลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก. มีจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนในลำไส้เล็กต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) นอกจากนี้พบว่าไก่กลุ่มที่ได้รับน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 มก./กก. อาหาร มีระดับแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลที่อายุ 56 วัน สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ขณะที่น้ำหนักตัวไก่ ปฏิกิริยาต้านออกซิเดชั่นของไขมัน และลักษณะจุลกายวิภาคของผนังลำไส้เล็ก ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในแต่ละกลุ่มการทดลอง การทดลองที่ 2 ศึกษาในไก่เนื้อเพศเมียพันธุ์ Cobb 500 จำนวน 144 ตัว แบ่งออกเป็น 4 กลุ่มการทดลองและได้รับอาหารที่มีการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในระดับเดียวกับการทดลองที่ 1 ผลการศึกษาพบว่า การเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหารมีผลเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตในไก่เนื้อ โดยไก่ที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหารทั้งสามขนาดมีน้ำหนักตัวที่อายุ 42 วัน มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยที่ไก่กลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในขนาด 400 มก./กก. อาหาร มีปริมาณการกินอาหารสะสม ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และอัตราแลกเนื้อของไก่กลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในขนาด 200 และ 400 มก./กก. น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ไก่ที่ได้รับอาหารที่เสริมน้ำมันตะไคร้แกงทั้งสามขนาด มีปริมาณ MDA ซึ่งเป็นผลจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันในซีรั่มโดยเฉลี่ย ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กลุ่มที่ได้รับน้ำมันตะไคร้แกงเสริมในอาหารทั้งสามขนาดมีสมรรถนะของ α-amylase มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในขนาดสูง มีจำนวนเชื้อ *E. coli* ลดลง และอัตราส่วนของจำนวนเชื้อ Lactobacilli ต่อ *E. coli* สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยสรุปแล้ว น้ำมันตะไคร้แกงสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียในทางเดินอาหาร และมีผลกระตุ้นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในไก่ไข่ และมีผลในการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโต ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันในเลือด เพิ่มการทำงานของเอนไซม์ช่วยย่อยจากตับอ่อน และปรับสมดุลของเชื้อจุลชีพในทางเดินอาหารในไก่เนื้อ แสดงให้เห็นว่าน้ำมันตะไคร้แกงมีผลที่ดีในการเพิ่มสมรรถนะของไก่ไข่และไก่เนื้อ จึงมีศักยภาพที่จะนำไปใช้เป็นวัตถุเติมในอาหารไก่

ภาควิชา เภสัชวิทยา ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา เภสัชวิทยาทางสัตวแพทย์ ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

ปีการศึกษา 2556 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

5475303331: MAJOR VETERINARY PHARMACOLOGY
KEYWORDS: CHICKENS / DIGESTIVE ENZYME ACTIVITY / GROWTH PERFORMANCE / GUT HEALTH / IMMUNITY / LEMONGRASS OILS / LIPID PEROXIDATION

KANANUCH VASUNTRARAK: EFFECTS OF DIETARY SUPPLEMENTATION OF LEMONGRASS OIL ON GROWTH PERFORMANCE, DIGESTIVE ENZYME ACTIVITY AND GUT HEALTH IN CHICKENS. ADVISOR: ASSOC. PROF. SUPATRA SRICHAIRAT, Ph.D., CO-ADVISOR: PROF. JIROJ SASIPREEYAJAN, D.V.M., Ph.D., 98 pp.

This study was aimed to investigate the effects of using lemongrass oil (LO) as feed additive in chickens. The study was divided into two experiments. The first experiment is designed to be a preliminary study. Fifty two, female layer chickens (Barbcock B-380) were assigned to the basal diet (CON) and the basal diet supplemented with 100 mg LO/kg diet (LO100), 200 mg LO/kg diet (LO200) and 400 mg LO/kg diet (LO400). The result from this study showed that there was no significant difference in the total body weight gain, serum malondyaldehyde (MDA) and intestinal histomorphology. Dietary supplemented with the high dose of LO decreased the number of total aerobic bacteria significantly ($p< 0.05$). In the final week, all of LO groups had higher ND antibody titers than control, however, significant difference was found only in LO 100 group ($p< 0.05$).

The second experiment was studied in 144 female broiler chickens (Cobb 500). Chickens were divided in to four groups and received the same feed as the first trial. The results showed that dietary supplement of LO increased the final body weight of chickens significantly ($p<0.05$). Feed intake of LO400 group was significantly ($p<0.05$) lower than the control group. Significant improvement of cumulative feed conversion ratio found in LO200 and LO400 group compared with the control group. All three doses of LO supplementation significantly ($p<0.05$) decreased serum MDA compared with the control. For the gut health, the activities of pancreatic α-amylase significantly ($P<0.05$) increased in chickens fed all three doses of LO. Dietary supplementation with the high dose of LO decreased the CFU of *E. coli* and Lactobacilli: *E. coli* ratio was significantly increased ($p<0.05$) comparing with those control and the lower dose of LO group. In conclusion, LO had antimicrobial effects and could stimulate immune response in layer chickens. For the broiler, LO fed in diet improved growth performance, inhibited serum lipid peroxidation, increased pancreatic enzyme activity and modulate intestinal microflora. It could be indicated that, LO had the potential to be used as feed additive in chicken.

Department : Pharmacology Student's Signature .....
Field of Study : Veterinary Pharmacology Advisor's Signature .....
Academic Year : 2013 Co-advisor's Signature .....

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ภญ.ดร. สุพัตรา ศรีไชยรัตน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก อาจารย์ผู้ให้ความรู้ คำแนะนำต่างๆ ให้ความช่วยเหลือ และสนับสนุน ตลอดการศึกษา และการทำวิจัย รวมถึงแง่คิดอื่นๆในการใช้ชีวิตด้วย

ขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ น.สพ.ดร. จิโรจ ศศิปรียจันทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม สำหรับความช่วยเหลือในด้านต่างๆ โดยเฉพาะการปฏิบัติงานกับสัตว์ทดลอง ซึ่งทำให้การศึกษาวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร. ปิยะรัตน์ จันทร์ศิริพรชัย รองศาสตราจารย์ น.สพ.ดร. กฤษ อังคนาพร และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร. กาญจนา อิ่มศิลป์ คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาสละเวลา และให้คำแนะนำ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณทุนอุดหนุนการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อเฉลิมฉลองวโรกาสที่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวทรงเจริญพระชนมายุครบ 72 พรรษา ที่ให้การสนับสนุนค่าใช้จ่ายในการศึกษาครั้งนี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์และเจ้าหน้าที่ ประจำภาควิชาเภสัชวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำ และกำลังใจ ตลอดการศึกษา และการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สิริชัย อดิศักดิ์วัฒนา ภาควิชาโภชนาการ และการกำหนดอาหาร คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และนิสิตปริญญาโทและเอกที่อำนวยความสะดวกในการใช้อุปกรณ์ และสถานที่เพื่อทำการวิจัยส่วนหนึ่ง ตลอดจนคำชี้แนะช่วยเหลือในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณ คุณชานนท์ ระวังเหตุ ที่ช่วยจัดหาอาหารสัตว์ และน้ำมันตะไคร้แกงที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่หน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความช่วยเหลือในการปฏิบัติการเกี่ยวกับแบคทีเรียวิทยา

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และขอขอบคุณ พี่สาว เพื่อนๆ และทุกท่านที่ให้การสนับสนุน และเป็นกำลังใจในการทำงานวิจัยตลอดมา ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ได้ในที่สุด

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ฎ

สารบัญภาพ ..... ฐ

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ ..... ฑ

บทที่ 1 บทนำ 1

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

วัตถุประสงค์ของการวิจัย 3

สมมติฐานการวิจัย 3

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย 3

กรอบความคิดในงานวิจัย 4

บทที่ 2 ทบทวนงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 5

วัตถุที่เติมในอาหารสัตว์ 5

การใช้ยาปฏิชีวนะเป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์ 5

การใช้พืช และสิ่งที่มาจากพืชเป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์ 6

น้ำมันหอมระเหย 7

ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพของน้ำมันหอมระเหย 9

การใช้น้ำมันหอมระเหยจากพืชในการเป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์ 11

ตะไคร้แกง (Lemongrass) 13

ข้อมูลทางพฤษศาสตร์พื้นฐานของตะไคร้แกง 13

การใช้ประโยชน์จากตะไคร้แกง 13

องค์ประกอบทางเคมี 14

ข้อมูลทางเภสัชจลนศาสตร์ 15

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของตะไคร้แกง 16

ฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันตะไคร้แกง 17

หน้า

การศึกษาความเป็นพิษของน้ำมันตะไคร้แกง 19
การใช้ตะไคร้แกงเป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์ 19
ความสำคัญของการศึกษาครั้งนี้ 20
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 21
1. วัสดุและอุปกรณ์ 21
1.1 สัตว์ทดลอง 21
1.2 สารทดสอบ 21
1.3 อาหาร 23
1.4 เวชภัณฑ์ที่ใช้ในการทดลอง 23
1.5 สารเคมี 24
1.6 เครื่องมือ และอุปกรณ์ 25
2. วิธีการทดลอง 26
2.1 การทดลองที่ 1: 26
2.1.1 สัตว์ทดลอง และอาหารทดลอง 26
2.1.2 การบันทึกผลการทดลอง และเก็บตัวอย่าง 26
2.1.3 การวัดการเจริญเติบโต และน้ำหนักอวัยวะ 26
2.1.4 การวัดระดับภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล 26
2.1.5 การศึกษาผลในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมัน 27
2.1.6 การตรวจนับเชื้อแบคทีเรียจาก content ในลำไส้เล็ก 28
2.1.7 การศึกษาลักษณะจุลกายวิภาคของผนังลำไส้เล็ก 29
2.2 การทดลองที่ 2: 29
2.2.1 สัตว์ทดลอง และอาหารทดลอง 29
2.2.2 การบันทึกผลการทดลอง และเก็บตัวอย่าง 29
2.2.3 สมรรถนะการเจริญเติบโต 30

หน้า

2.2.4 น้ำหนักอวัยวะสัมพัทธ์ 30
2.2.5 การวัดระดับภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อการทำวัคซีน 30
2.2.6 การศึกษาผลในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมัน 30
2.2.7 การตรวจนับเม็ดเลือดและค่าชีวเคมีการทำงานของตับ และไต 30
2.2.8 การวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์จากตับอ่อน 31
2.2.9 การตรวจนับเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ lactobacilli ในลำไส้ 36
2.2.10 การศึกษาลักษณะจุลกายวิภาคของลำไส้ 36
3. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 36
บทที่ 4 ผลการทดลอง 37
1. การศึกษาเบื้องต้นของการใช้น้ำมันตะไคร้แกงเสริมอาหารในไก่ไข่ 37
1.1 ผลต่อการเจริญเติบโต 37
1.2 น้ำหนักอวัยวะสัมพัทธ์ 37
1.3 การศึกษาผลในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมัน 40
1.4 การศึกษาลักษณะจุลกายวิภาคของลำไส้ 41
1.5 การตรวจนับเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจน จากลำไส้เล็ก 42
1.6 การวัดระดับภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อการทำวัคซีน 43
2. การศึกษาผลของการใช้น้ำมันตะไคร้แกงเสริมอาหารในไก่เนื้อ 44
2.1 ผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต 44
2.2 ผลน้ำหนักอวัยวะสัมพัทธ์ 45
2.3 ผลการตรวจนับเม็ดเลือด และค่าชีวเคมีการทำงานของตับและไต 50
2.3.1 ค่าทางโลหิตวิทยาของเม็ดเลือดแดง 50
2.3.2 ค่าทางโลหิตวิทยาของเม็ดเลือดขาว 50
2.3.3 ค่าชีวเคมีการทำงานของตับและไต 53
2.4 ผลการศึกษาผลในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมัน 54
2.5 ผลการวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์จากตับอ่อน 55

หน้า

2.5.1 ผลการวิเคราะห์ α-amylase activity 55
2.5.2 ผลการวิเคราะห์ Trypsin activity 56
2.6 ผลการศึกษาลักษณะจุลกายวิภาคของลำไส้ 57
2.7 ผลการตรวจนับเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ Lactobacilli ในลำไส้ 58
2.8 ผลการวัดระดับภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อการทำวัคซีน 59
2.8.1 ผลของน้ำมันตะไคร้แกงเสริมอาหารไก่ ต่อการตอบสนอง ทางภูมิคุ้มกันจากการทำวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล 59
2.8.2 ผลของน้ำมันตะไคร้แกงเสริมอาหารไก่ ต่อการตอบสนอง ทางภูมิคุ้มกันจาก การทำวัคซีนป้องกันโรคเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ 60
บทที่ 5 อภิปรายและสรุปผลการวิจัย 62
อภิปรายผล 62
สรุปผลการวิจัย 78
ข้อเสนอแนะ 79
รายการอ้างอิง 80
ภาคผนวก 92
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 98

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2-1 แสดงชนิดขององค์ประกอบ และความหลากหลายขององค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหย 8

2-2 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ของมันหอมระเหยและสารองค์ประกอบจากพืชหลายชนิด 9

2-3 แสดงฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลชีพของน้ำมันหอมระเหยแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มตามความเข้มข้นที่ให้การตอบสนองในการต้านเชื้อจุลชีพได้เทียบเท่า carbadox 10

2-4 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ด้วยวิธี Agar well diffusion 18

2-5 แสดงค่า MIC และMBC ของน้ำมันตะไคร้แกง ศึกษาที่ความเข้มข้น 0.5-0.015% 18

3-1 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันตะไคร้แกงที่ใช้ในการทดลองที่ 1 และ 2 22

3-2 แสดงร้อยละของคุณภาพของอาหารสัตว์ทางเคมี ในอาหารไก่ที่ใช้ในการทดลองที่ 1 และ การทดลองที่ 2 23

3-3 แสดงขั้นตอนการวิเคราะห์ α-amylase activity โดยใช้ DNS reagent 33

3-4 แสดงขั้นตอนการวิเคราะห์ Trypsin activity โดยใช้ BAPNA เป็นสารตั้งต้น 35

4-1 แสดงน้ำหนักตัวเฉลี่ยของไก่แต่ละกลุ่มการทดลอง ที่อายุ 1, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 และ 56 วัน 38

4-2 แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักอวัยวะของหัวใจ ม้าม ตับ ตับอ่อน และกระเพาะบด ของแต่ละกลุ่มการทดลอง 49

4-3 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณ MDA ในซีรั่มของไก่แต่ละกลุ่มการทดลอง ที่อายุ 56 วัน 40

4-4 แสดงค่าเฉลี่ยความสูงของวิลลัส ความลึกของคริปท์ และอัตราส่วนระหว่าง ความสูงของวิลลัส ความลึกของคริปท์ของผนังลำไส้เล็กส่วนกลาง ของไก่ที่อายุ 56 วัน 41

4-5 แสดงค่าเฉลี่ย HI antibody titer ของไก่ที่อายุ 28, 42, 49 และ 56 วัน 43

4-6 แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวไก่ของแต่ละกลุ่มการทดลอง ที่อายุ 1, 7, 14, 21, 28, 35 และ 42 วัน 46

4-7 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณอาหารที่กินของไก่ ในช่วงอายุแต่ละสัปดาห์ และปริมาณอาหารที่กินสะสม 47

ตารางที่ หน้า

4-8 แสดงค่าเฉลี่ยอัตราแลกเนื้อสะสมของไก่ในแต่ละสัปดาห์ 48
4-9 แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักอวัยวะของตับ ตับอ่อน หัวใจ ม้าม กระเพาะบด และเบอร์ซ่า ของแต่ละกลุ่มการทดลอง 49
4-10 แสดงค่าเฉลี่ยของค่าทางโลหิตวิทยาของเม็ดเลือดแดงของไก่ที่อายุ 42 วัน 51
4-11 แสดงค่าเฉลี่ยของค่าทางโลหิตวิทยาของเม็ดเลือดขาวของไก่ที่อายุ 42 วัน 52
4-12 แสดงค่าเฉลี่ยของค่าชีวเคมีการทำงานของตับและไต ของไก่ที่อายุ 42 วัน 53
4-13 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณ MDA ในซีรั่มของไก่แต่ละกลุ่มการทดลอง 54
4-14 แสดงค่าเฉลี่ยสมรรถนะของ α-amylaseจากตัวอย่างตับอ่อนของไก่ แต่ละกลุ่มการทดลอง ที่อายุ 42 วัน 55
4-15 แสดงค่าเฉลี่ยสมรรถนะของเอนไซม์ trypsin จากตัวอย่างตับอ่อนของไก่ แต่ละกลุ่มการทดลอง ที่อายุ 42 วัน 56
4-16 แสดงค่าเฉลี่ยความสูงของวิลลัส ความลึกของคริปท์ และอัตราส่วนระหว่าง ความสูงของวิลลัส ความลึกของคริปท์ของผนังลำไส้เล็กส่วนกลาง ของไก่ที่อายุ 42 วัน 57
4-17 แสดงค่าเฉลี่ยค่าเฉลี่ยจำนวน CFU ของเชื้อ *E. coli*, Lactobacilliและอัตราส่วนของจำนวน CFU ของเชื้อ Lactobacilli ต่อ *E. coli* จากลำไส้เล็กของไก่ที่อายุ 42 วัน 58
4-18 แสดงค่าเฉลี่ยHI antibody titer ของไก่ที่อายุ 7, 14, 28 และ 42 วัน 59
4-19 แสดงค่า corrected OD เฉลี่ย จากการตรวจวัดระดับ IBD antibody titer ด้วยวิธี ELISA ของตัวอย่างซีรั่มไก่ที่อายุ 35 วัน 61

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2-1	แสดงการทำงานหลักของ phytogenic feed additive	7
2-2	แสดงลักษณะต้น หัว และใบตะไคร้แกง	13
2-3	แสดงโครงสร้างทางเคมีของ myrcene, geraniol, nerol, geranial และ neral	15
3-1	แสดงกราฟมาตรฐานของสาร MDA จากการทดลองที่ 1	28
3-2	แสดงกราฟมาตรฐานของสาร maltose ในช่วงความเข้มข้น 0-1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร	33
3-3	แสดงกราฟมาตรฐานของสาร p-NA ในช่วงความเข้มข้น 0-3 นาโนโมล/มิลลิลิตร	35
4-1	แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจำนวน CFU ของแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนทั้งหมด จาก content ในลำไส้เล็กของไก่	42
4-2	แสดงภาพการเปลี่ยนแปลงของการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน ไก่ที่อายุ 28, 42, 49 และ 56 วัน	44

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

α	=	Alpha
β	=	Beta
AGP	=	antibiotic growth promoters
BAPNA	=	N-a-benzoyl-DL-arginine-p-nitroanilide
BHT	=	2,6-di-wert-butyl-4-methylphenol
CD	=	crypt depth
CFU	=	Colony forming unit
DNS	=	dinitrosalicylic acid
EDTA	=	ethylenediaminetetraacetic acid
FCR	=	feed conversion ration
FI	=	feed intake
HI	=	hemagglutination-inhibition
IBD	=	infectious bursal disease
LO	=	lemongrass oil
MDA	=	malondialdehyde
mda	=	maternally derived antibodies
mg/ml	=	milligram per milliliter
µl	=	microliter
µM	=	micromolar (micromol per liter)

mM	=	millimolar (millimol per liter)
ND	=	Newcastle disease
nm	=	nanometer
PBS	=	phosphate buffer saline
p-NA	=	*p*-nitroaniline
SE	=	standard error
SGOT	=	serum glutamic oxaloacetic transaminase
SGPT	=	serum glutamic pyruvic transaminase
TBA	=	thiobarbituric acid
TBARS	=	thiobarbituric acid reactive substances
TCA	=	trichloroacetic acid
U/mg protein	=	unit per milligram protein
VH	=	villous height
มก./กก.	=	มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การใช้พืชสมุนไพรหรือสารสกัดจากพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่ง น้ำมันหอมระเหย (essential oils) กำลังได้รับความสนใจในอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์เพื่อทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะเป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์ (feed additive) ปัจจุบันมีการศึกษาและพัฒนาการใช้น้ำมันหอมระเหยเพื่อเป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์มากขึ้น โดยเฉพาะในอุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่ เนื่องจากการตื่นตัวของผู้บริโภคที่ต้องการอาหารที่ปราศจากยา ถึงแม้ว่าการใช้ยาปฏิชีวนะเป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์ เพื่อควบคุมและป้องกันโรค และหวังผลเพิ่มการเจริญเติบโตในการผลิตไก่ และสัตว์เศรษฐกิจอื่นๆเคยเป็นที่ยอมรับและใช้กันอย่างแพร่หลายทั่วโลกมานานกว่า 50 ปี (Gustafson and Bowen,1997) แต่ปัญหาที่เกิดจากการใช้ยาปฏิชีวนะในระดับต่ำกว่าการรักษาเพื่อเป็นสารเร่งการเจริญเติบโต (Antibiotics growth promoter) มีส่วนทำให้เกิดการพัฒนาการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย (Gould, 2008) และการตกค้างของยาในเนื้อสัตว์ที่มีผลต่อความปลอดภัยของผู้บริโภค นอกจากนี้การดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรค มีโอกาสทำให้เกิดการส่งผ่านยีนดื้อยาของเชื้อที่ปนเปื้อนอยู่ในผลิตภัณฑ์จากสัตว์ไปสู่มนุษย์ได้ (Van de Bogaard and Stobberingh, 2000) และส่งผลต่อการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในมนุษย์ด้วย จากรายงานการดื้อยาที่เพิ่มมากขึ้นทุกปี ทำให้ในปี 2006 สหภาพยุโรป ได้ประกาศห้ามใช้ยาปฏิชีวนะทุกชนิดผสมในอาหารสัตว์เพื่อเร่งการเจริญเติบโตและป้องกันโรค และมีอีกหลายประเทศเริ่มห้ามใช้ยาปฏิชีวนะเป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์ตามมา (Gould, 2008)

ประเทศไทยเป็นผู้ผลิตเนื้อไก่ส่งออกรายใหญ่ โดยติดอันดับผู้ส่งออก 1 ใน 5 ของโลก ในปี พ.ศ. 2555 (ที่มา: ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร สำนักงานปลัดกระทรวงพาณิชย์) การส่งออกเนื้อไก่ไปยังประเทศต่างๆนั้น ไทยจะต้องได้รับการรับรองมาตรฐานของระบบการผลิตเนื้อไก่ตามที่ประเทศคู่ค้ากำหนด จึงทำให้ระบบการเลี้ยงไก่เพื่อการส่งออกในปัจจุบัน ต้องดำเนินตามนโยบายดังกล่าวโดยไม่มีการใช้ยาปฏิชีวนะเสริมในอาหารไก่ และหันมาสนใจวัตถุเติมในอาหารชนิดอื่นๆที่จะสามารถส่งเสริมสุขภาพและเพิ่มผลผลิต ที่ได้รับการยอมรับจากประเทศคู่ค้า เช่น organic acid, probiotics และ prebiotics เป็นต้น รวมถึงการใช้น้ำมันหอมระเหยจากออริกาโนซึ่งปัจจุบันต้องนำเข้าจากต่างประเทศ

น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากพืชสมุนไพรส่วนใหญ่ประกอบด้วยสารหลายชนิด และมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย มีน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากพืชหลายชนิดที่ผ่านการศึกษาอย่างมีระบบ เพื่อใช้เป็นวัตถุเติมในอาหารไก่เนื้อ เช่น น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากออริกาโน มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการกินอาหารและเพิ่มเอนไซม์ช่วยย่อยอาหาร (Malayoglu et al., 2010) ต้านอนุมูลอิสระ (Botsoglou et al., 2002) และต้านเชื้อบิดในไก่ (Giannenas et al., 2003) น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากอบเชย มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านจุลชีพ และลดไขมันในเลือดและเนื้อสัตว์ (Ciftci et al., 2010) ปัจจุบัน น้ำมันหอมระเหยจากออริกาโนได้ผ่านการศึกษาและพัฒนาเป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์ได้มีจำหน่ายกันอย่างแพร่หลาย

ตะไคร้แกงเป็นพืชในวงศ์กรามินี (Gramineae Family) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Cymbopogon citratus* Stapf. มีชื่อสามัญคือ lemongrass ปลูกมากในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ไทย อินโดนีเซีย และพม่า ตะไคร้แกงจัดเป็นสมุนไพรพื้นบ้านของไทย มีสรรพคุณทางยาใช้รักษาโรค เช่น โรคระบบทางเดินปัสสาวะ แก้ท้องอืด ลดความดันโลหิต เป็นต้น ส่วนของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้แกงมีประโยชน์ใช้ในทางอุตสาหกรรม เช่น อุตสาหกรรมเครื่องดื่ม เครื่องสำอาง และเครื่องเทศแต่งรส น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากตะไคร้แกง (น้ำมันตะไคร้แกง) ประกอบไปด้วยสารประกอบหลายชนิด โดยมี citral เป็นสารหลัก พบว่ามีร้อยละ 65-80 รองลงมาคือ myrcene มีร้อยละ 12-20 นอกจากนี้ยังมีองค์ประกอบอื่นๆ เช่น limonene, citronellal, geraniol, linalool เป็นต้น (Guenther, 1950) สารประกอบเหล่านี้เป็นสารสำคัญในการออกฤทธิ์ของน้ำมันตะไคร้แกงที่ผ่านการศึกษาวิจัยแล้วว่ามีคุณสมบัติ ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Onawunmi, 1984) และรา (Wannissom, 1996) ต้านอนุมูลอิสระ และต้านการอักเสบ (Carlini et al., 1986) นอกจากนี้ยังมีผลลดระดับน้ำตาลและไขมันในเลือดของหนูทดลอง (Adeneye and Agbaje, 2007) โดยเหตุที่ตะไคร้แกงเป็นพืชพื้นบ้านที่ปลูกได้ง่าย มีอยู่ทั่วไปในประเทศไทย ราคาถูก กระบวนการสกัดทำได้ง่ายและให้น้ำมันในปริมาณมาก ตะไคร้แกงจัดว่ามีความปลอดภัยสูง เนื่องจากได้รับการกำหนดไว้ว่าเป็นพืชในกลุ่ม GRAS (Generally Recognized As Safe) นอกจากนี้ยังมีการศึกษายืนยันว่าไม่มีความเป็นพิษทั้งในมนุษย์ และสัตว์ (Leite et al., 1986; Adeneye and Agbaje, 2007) จึงเป็นที่น่าสนใจในการนำมาใช้เป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์ อย่างไรก็ตามยังขาดข้อมูลหลักฐานทางวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับประสิทธิภาพ และปริมาณการใช้น้ำมันตะไคร้แกงที่เหมาะสมผสมในอาหารไก่ ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ ในการใช้น้ำมันตะไคร้แกงเป็นวัตถุเติมในอาหารไก่ โดยศึกษาปัจจัยที่เป็นคุณสมบัติหลักของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากพืช ที่จะใช้เป็นวัตถุเติมในอาหาร คือ ผลต่อการเจริญเติบโต ผลต่อภูมิต้านทาน

จำนวนเชื้อจุลชีพในทางเดินอาหาร นอกจากนี้ยังวัดสุขภาพของทางเดินอาหารโดยรวม สมรรถนะเอนไซม์ช่วยย่อย ค่าชีวเคมีของการทำงานของตับและไต และฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นของไขมันในเลือด องค์ความรู้ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาน้ำมันตะไคร้แกงเป็นวัตถุเติมในอาหารไก่ เพื่อส่งเสริมสุขภาพและเพิ่มผลผลิตตามนโยบายอาหารปลอดภัย โดยไม่ต้องพึ่งพาสารเคมีหรือผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหยที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

การศึกษาวิจัยครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อ

ศึกษาผลของการใช้น้ำมันตะไคร้แกงเป็นวัตถุเติมในอาหารไก่ ในด้านสมรรถนะการเจริญเติบโต ภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อวัคซีน การทำงานของเอนไซม์ช่วยย่อยจากตับอ่อน ค่าชีวเคมีในเลือด การต้านฤทธิ์ออกซิเดชั่นของไขมัน และสุขภาพทางเดินอาหาร

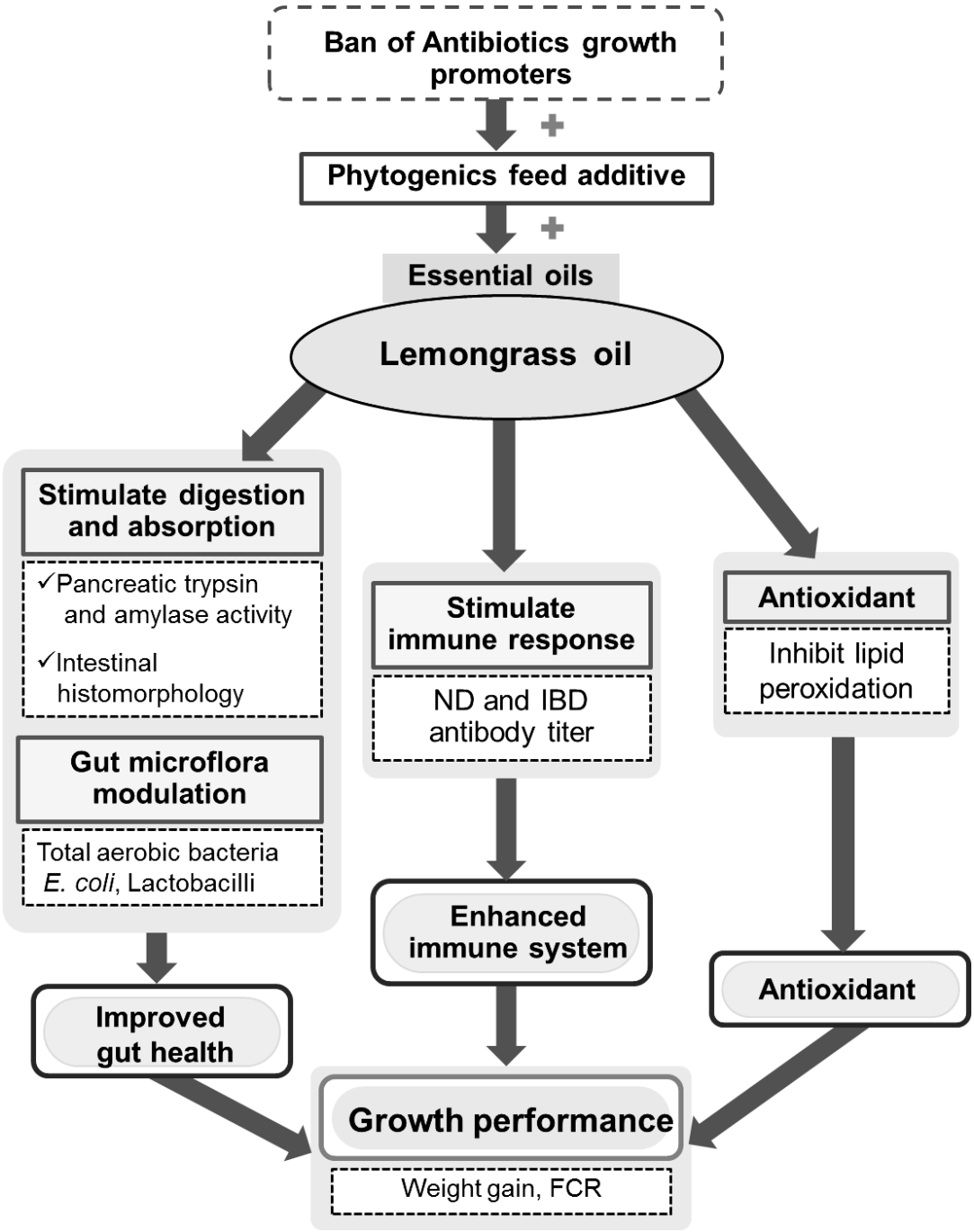
สมมติฐานการวิจัย

1. การใช้น้ำมันตะไคร้แกงเป็นวัตถุเติมในอาหารไก่มีผลเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตและภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อวัคซีน
2. การเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหารไก่ทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันในเลือดลดลง
3. น้ำมันตะไคร้แกงมีผลดีต่อสุขภาพและการทำงานของทางเดินอาหาร โดยเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ย่อยอาหารจากตับอ่อน มีผลต่อปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ และมีผลต่อลักษณะที่ดีของผนังลำไส้

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. ได้ข้อมูลประสิทธิภาพของการใช้น้ำมันตะไคร้แกงเป็นวัตถุเติมในอาหารไก่ ซึ่งสามารถนำไปต่อยอดเพื่อพัฒนาการใช้สมุนไพรไทย ในการผลิตไก่ต่อไป
2. ได้เรียนรู้และพัฒนาทักษะในการทำงานวิจัย รวมถึงเทคนิคและวิธีการสำหรับงานวิจัยทางเภสัชวิทยาทางสัตวแพทย์

กรอบความคิดในงานวิจัย



บทที่ 2

ทบทวนงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

วัตถุที่เติมในอาหารสัตว์ (animal feed additive)

วัตถุเติมในอาหารสัตว์ (feed additives) คือสิ่งที่เติมลงในอาหารสัตว์ในปริมาณเล็กน้อย โดยมีวัตถุประสงค์เฉพาะ โดยที่ไม่มีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นอาหาร แม้ว่าจะมีคุณค่าทางโภชนาการหรือไม่ก็ตาม อาจแบ่งได้เป็นสองกลุ่มใหญ่ๆคือ วัตถุเติมในอาหารเพื่อเพิ่มโภชนาการและสารอาหาร (nutritional feed additive) เช่น วิตามิน กรดอะมิโน และแร่ธาตุ วัตถุเติมในอาหารที่ไม่มีคุณค่าทางโภชนาการ (non-nutritional feed additive) แต่มีประโยชน์อื่นๆ เช่น ส่งผลต่อลักษณะของอาหาร เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพการใช้อาหาร การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต และการควบคุมป้องกันโรค ตัวอย่างของวัตถุเติมในอาหารที่ไม่มีคุณค่าทางโภชนาการ เช่น สารแต่งกลิ่นและรส (flavor and sweetener), สารประสานเม็ดอาหาร (pellet binder), สารปรับ pH ในทางเดินอาหาร (pH regulator acidifier), เอนไซม์ (enzyme), ยาปฏิชีวนะ (antibiotics), prebiotic, probiotic และ phytobiotics เป็นต้น วัตถุเติมในอาหารสัตว์มีความแตกต่างจากยาที่ใช้ทางสัตวแพทย์ เนื่องจากยาจะให้ในสัตว์ป่วย เพื่อรักษาและควบคุมโรค โดยให้เพียงช่วงเวลาหนึ่งเท่านั้น แต่วัตถุเติมในอาหารสัตว์จะผสมในอาหารให้แก่สัตว์ที่มีสุขภาพปกติ และให้เป็นเวลานาน อาจตลอดช่วงการเลี้ยง (Wallace et al., 2010)

การใช้ยาปฏิชีวนะเป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์ (antibiotics feed additive)

การใช้ยาปฏิชีวนะผสมในอาหารสัตว์เพื่อเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโต (antibiotic growth promoters; AGP) เป็นที่ยอมรับและใช้กันอย่างแพร่หลายทั่วโลกมานาน (Gustafson and Bowen,1997) โดยมีรายงานว่ามีการอนุญาตอย่างเป็นทางการให้ใช้ยาปฏิชีวนะเป็น AGP จากองค์การอาหารและยาประเทศสหรัฐอเมริกา ตั้งแต่ปี 1951 (Jones and Ricke, 2003) มียาปฏิชีวนะหลายชนิด เช่น avoparcin, lincomycin, chlortetracycline และ virginiamycin ถูกนำมาใช้เติมในอาหารสัตว์เพื่อเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโต (Coates et al., 1963)

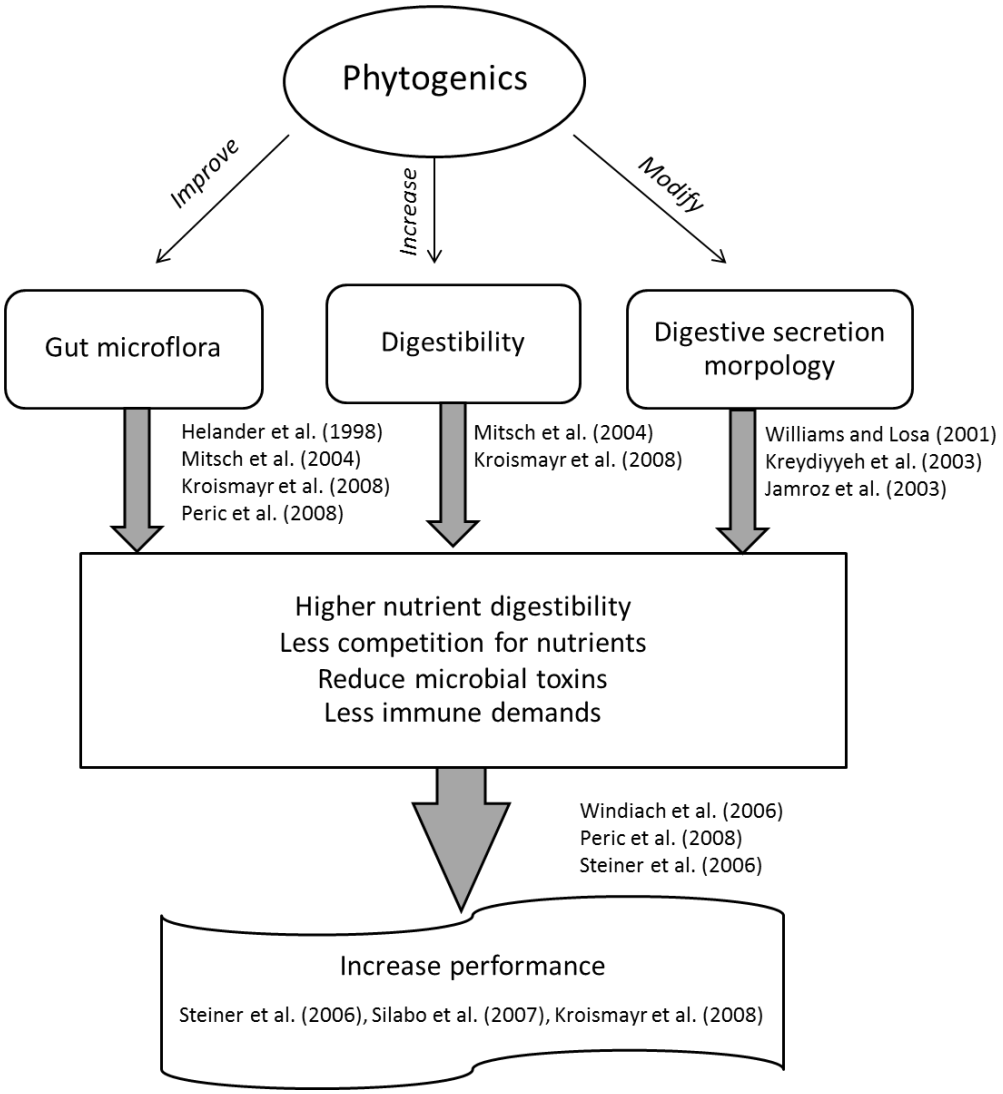
ปัญหาที่เกิดจากการใช้ยาปฏิชีวนะระดับต่ำกว่าขนาดที่ใช้เพื่อการรักษาโรค (subtherapeutics level) ผสมอาหารให้สัตว์กินติดต่อกันเป็นเวลานาน มีส่วนทำให้เกิดการพัฒนาการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรีย (Gould, 2008) และการตกค้างของยาในเนื้อสัตว์ซึ่งอาจจะมีผลต่อความปลอดภัยของผู้บริโภค การดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรค (pathogenic bacteria) ที่เกิดจากการส่งผ่านยีนดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่ปนเปื้อนอยู่ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ไปสู่มนุษย์

เกิดขึ้นได้จากทั้งการสัมผัสในกระบวนการผลิต และการบริโภค (Van de Bogaard and Stobberingh, 2000) และส่งผลต่อการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในมนุษย์ เนื่องจากยาปฏิชีวนะหลายชนิดที่ได้รับอนุญาตให้ใช้เพื่อเป็น AGP เป็นยาที่ใช้ในการรักษาในมนุษย์ด้วย เช่น bacitracin, chlortetracycline, erythromycin, lincomycin, novobiocin, oxytetracycline และ penicillin (Jones and Ricke, 2003) ด้วยความกังวลดังกล่าว ในปี 2006 สหภาพยุโรป ได้ประกาศห้ามใช้ยาปฏิชีวนะทุกชนิดผสมในอาหารสัตว์เพื่อเร่งการเจริญเติบโตและป้องกันโรค (Gould, 2008) จึงทำให้เกิดความตื่นตัวในการหาสิ่งอื่นมาทดแทน เช่น การใช้เอนไซม์ สารเสริมชีวนะ (probiotics) อาหารเสริมชีวนะ (prebiotics) รวมถึงการใช้พืชสมุนไพรหรือสารสกัดจากพืช (phytobiotics) กำลังได้รับความสนใจศึกษา และนำมาใช้มากขึ้นในปัจจุบัน

การใช้พืช และสิ่งที่มาจากพืชเป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์ (phytogenic feed additive)

Phytogenic feed additive หรือเรียกว่า phytobiotics หรือ botanicals additive คือสิ่งที่มาจากพืชที่ใช้เติมในอาหารสัตว์แล้วมีผลในการเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตสัตว์ เช่นเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโต มีผลดีต่อสุขภาพสัตว์ และเพิ่มคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์ (Windisch et al., 2008) โดย phytobiotics อาจมาจากส่วนต่างๆของพืช เช่น ใบ ราก ลำต้น ของผลไม้ หรือสมุนไพร และเครื่องเทศต่างๆ โดยอยู่ในรูปของแข็ง ป่นเป็นผง หรือสารสกัดที่ได้องค์ประกอบทางเคมีของพืชมาใช้ ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีของพืชนี้ยังแบ่งออกเป็นกลุ่มๆ เช่น สารอัลคาลอยด์ (alkaloids), กรด(acids), เสตียรอยด์ (steroids), แทนนิน(tannin), ซาโปนิน (saponin) และ น้ำมันหอมระเหย (essential oils) เป็นต้น พืชที่มีสารประกอบเหล่านี้เป็นส่วนผสมของยาแผนโบราณ และเป็นส่วนประกอบในอาหารของทั้งคนและสัตว์อยู่แล้ว จึงเป็นที่ยอมรับถึงความปลอดภัย มีพิษต่ำ และไม่เสี่ยงต่อการตกค้างที่อาจกาอให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค เมื่อเทียบกับยาปฏิชีวนะ หรือสารเคมีสังเคราะห์อื่นๆ (Windisch et al., 2008)

จากการศึกษารวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวกับการใช้ phytogenic feed additive ในการผลิตสัตว์ โดย Hashemi และ Davoodi (2010) ได้สรุปการทำงานหลักที่มีผลที่ดีต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และสุขภาพสัตว์ไว้ว่าเกิดจาก phytobiotics มีผลต่อระบบนิเวศน์ของเชื้อจุลชีพในทางเดินอาหาร ปรับปรุงประสิทธิภาพการย่อยอาหารในลำไส้เล็ก และเพิ่มความสามารถในการใช้สารอาหารจากการปรับเปลี่ยนการทำงานของลำไส้เล็ก (ภาพที่ 2-1) นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ ต้านอนุมูลอิสระ และส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกัน การใช้ phytobiotics เป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์ จึงมีความสนใจศึกษาเพื่อมาทดแทนการใช้ AGP ที่กำลังจำกัดการใช้ และห้ามใช้ในหลายประเทศ



ภาพที่ 2-1 การทำงานหลักของ phytogenic feed additive ที่ทำให้เกิดผลดีต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และสุขภาพสัตว์
ที่มา: (Hashemi and Davoodi, 2010)

น้ำมันหอมระเหย (Essential oils)

น้ำมันหอมระเหย คือสารธรรมชาติที่พืชสร้างขึ้นมาสะสมไว้ในส่วนต่างๆ เช่น ใบ ลำต้น ราก เมล็ด เปลือก และดอก องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยมีความซับซ้อน ประกอบไปด้วยสารหลายชนิด โดยหลักเป็นสารในหลุ่ม phenylpropanoids และ terpenes (mono และ sesquiterpenes) สารกลุ่ม terpenes มีโมเลกุลพื้นฐานคือ isoprene ที่ประกอบด้วยคาร์บอน 5 อะตอม โดย monoterprene จะมี isoprene 2 โมเลกุล ในขณะที่ sesquiterpenes จะมี isoprene 3 โมเลกุล นอกจากนี้ในแต่ละกลุ่มก็ยังมีความแตกต่างกันของ functional group เช่น

alcohols และ aldehydes (Bakkali et al., 2008) ส่วน phenylpropanoids เป็นสารที่มักจะพบเป็นส่วนประกอบจำนวนน้อย แต่พบว่าเป็นสารออกฤทธิ์ที่สำคัญในการต้านเชื้อจุลชีพด้วย

ตารางที่ 2-1 ชนิดขององค์ประกอบ และความหลากหลายขององค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหย

Component group	Functional group	Plants
Monoterpenes (C 10)	Phenols: Thymol	Thyme
	Aldehydes: Citral	Lemongrass
	Alcohols: Menthol	Peppermint
Sesquiterpenes (C 15)	Zingiberol	Ginger
Phenylpropane	Cinnamaldehyde	Cassia

ที่มา: (Wald, 2004)

วิธีการสกัดน้ำมันหอมระเหยมีหลายวิธี เช่น การกลั่นด้วยน้ำร้อนหรือไอน้ำ (water or steam distillation) การสกัดด้วยตัวทำละลายเคมี (solvent extraction) และการคั้นหรือบีบภายใต้ความดัน (expression under pressure) เป็นต้น ซึ่งการเลือกใช้แต่ละวิธีแตกต่างกันไปตามชนิดและส่วนของพืชที่ใช้สกัด ปัจจัยที่ส่งผลต่อปริมาณและคุณภาพน้ำมันหอมระเหยมีหลายประการ เช่น ภูมิประเทศ ภูมิอากาศ ของแหล่งที่ปลูก การเก็บเกี่ยว รวมถึงวิธีการสกัด มีน้ำมันหอมระเหยกว่า 3000 ชนิด ซึ่งมีประมาณ 300 ชนิดที่มีการผลิตเพื่อการค้าในอุตสาหกรรมหลักเกี่ยวกับการแต่งกลิ่น และน้ำหอม (Van de Braak and Leijten, 1999) น้ำมันหอมระเหยบางชนิดถูกนำมาใช้ในการรักษาโรคอย่างแพร่หลายในมนุษย์ โดยพบว่าสารประกอบในน้ำมันหอมระเหยส่วนหนึ่งที่ได้จากเครื่องเทศนี้มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านเชื้อไวรัส ต่อต้านอนุมูลอิสระ และต้านเบาหวานได้ (Edris, 2007) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาวิจัยที่รายงานผลที่เป็นประโยชน์อื่นๆของน้ำมันหอมระเหย เช่นกระตุ้นระบบย่อยอาหาร และการเผาผลาญไขมัน (Acamovic and Brooker, 2005) ด้วยคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยที่มีหลากหลาย จึงทำให้มีการนำน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรที่เป็นเครื่องเทศมาใช้ในทางปศุสัตว์ ทั้งในรูปแบบของน้ำมันหอมระเหยจากพืชทั้งหมด หรือ เป็นสารผสมของสารประกอบตัวใดตัวหนึ่งที่มีอยู่ในน้ำมันหอมระเหย และสารเดี่ยวที่แยกได้บริสุทธิ์ (Wallace et al., 2010)

ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพของน้ำมันหอมระเหย

ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพของน้ำมันหอมระเหยโดยส่วนใหญ่มาจากสารประกอบฟีนอล (phenolic compound) ได้แก่สาร carvacrol, thymol และ eugenol และสารอื่นๆ เช่น phenylpropane, limonene, geraniol และ citronellal Franz และคณะ (2010) ได้รวบรวมข้อมูลการศึกษาภายนอกร่างกายถึงฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลชีพของน้ำมันหอมระเหยจากพืชหลายชนิด รวมทั้งสารองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยที่แยกได้ โดยศึกษาในเชื้อ *Escherichia coli (E. coli), Salmonella* Typhimurium *(S.* Typhimurium) *Staphylococcus aureus (S. aureus)*, *Listeria monocytogenes (L. monocytogenes)* และ *Bacillus cereus (B. cereus)* และค่า MIC ที่ได้สรุปไว้ในตารางที่ 2-2

ตารางที่ 2-2 ความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (Minimum inhibitory concentration; MIC) ของมันหอมระเหยจากพืชหลายชนิด รวมทั้งสารองค์ประกอบ

	Microorganism				
	E. coli	*S.* Typhimurium	*S. aureus*	*L. monocytogenes*	*B. cereus*
Rosemary	4.5–10.0	>20.0	0.4–10.0	0.2	0.2
Sage	3.5–5	10–20	0.75–10	0.2	-
Oregano	0.5–1.2	1.2	0.5–1.2	-	-
Thyme	0.4–1.2	0.45–20	0.2–2.5	0.2–0.5	-
Clove	0.4–2.5	>20.0	0.4–2.5	0.3	-
Lemongrass	0.6	2.5	0.6	-	-
Limonene	0.70	-	-	-	-
Carvacrol	0.1–5.0	0.2–0.25	0.2–0.45	0.4–0.5	0.25
Thymol	0.10–0.45	0.06	0.17–0.25	0.20–0.45	0.35–0.45
Geraniol	0.15	-	0.35	1.25	0.35
Eugenol	0.55	-	0.75	0.55	0.30

MIC มีหน่วยเป็น ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร (µl/ml)

ที่มา: (Franz et al., 2010)

Wald (2004) ทำการศึกษาฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลชีพภายนอกร่างกายสัตว์ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชหลายชนิดด้วยวิธี agar dilution test โดยคัดเลือกเชื้อที่ใช้ทดสอบเป็นตัวแทนแต่ละกลุ่มเชื้อ ได้แก่ เชื้อแบคทีเรียที่พบในสิ่งแวดล้อม เช่น *Bacillus subtilis* เชื้อที่ก่อโรคในสุกร เช่น *Erysipelothrix rhusiopathiae* เชื้อแบคทีเรียก่อโรคในไก่ เช่น *Eschericia coli* (*E. coli*) เชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นในร่างกายสัตว์ เช่น *Enterococcus faecium* และเชื้อรา *Candida albicans* ศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลชีพของน้ำมันหอมระเหยกับ carbadox แล้วจัดกลุ่มน้ำมันหอมระเหยออกเป็น 3 กลุ่มตามความเข้มข้นที่ให้การตอบสนองในการต้านเชื้อจุลชีพได้เทียบเท่า carbadox ผลพบว่าน้ำมันตะไคร้แกง ออริกาโน ไทม์ และสระแหน่ อยู่ในกลุ่มน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ความเข้มข้นต่ำ (30-500 ppm) และมีฤทธิ์ต้านจุลชีพได้เทียบเท่า carbadox ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มที่มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อสูง (ตารางที่ 2-3)

ตารางที่ 2-3 ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพของน้ำมันหอมระเหยแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มตามความเข้มข้นที่ให้การตอบสนองในการต้านเชื้อจุลชีพได้เทียบเท่า carbadox

Highly effective (30-500 ppm)	Less effective (500-4000 ppm)	Not effective (> 4000 ppm)
Mugwort	Cardamom	Anise
Cassia	Eucalyptus	Fennel
Coriander	Dill	Ginger
Lemongrass	Garlic	
Oregano	Caraway	
Peppermint	Sage	
Pimento	Star anise	
Tea Tree		
Thyme		

ที่มา: (Wald, 2004)

ถึงแม้ว่าฤทธิ์ในการต้านจุลชีพของน้ำมันหอมระเหยจะเป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลาย และใช้ประโยชน์มาเป็นเวลานาน แต่กลไกการทำงานของน้ำมันหอมระเหยในการต้านเชื้อจุลชีพยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด ในอดีตมีการอธิบายไว้ว่าน่าจะเกี่ยวข้องกับคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถละลายได้ดีในไขมัน จึงแทรกผ่านและเข้าไปสะสมในเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย ขัดขวางการขนส่งสาร และการสร้างพลังงาน ทำให้เกิดการตายของเซลล์แบคทีเรียในที่สุด (Helander et al., 1998) ในปัจจุบันมีข้อมูลการศึกษาเกี่ยวกับกลไกการทำงานของน้ำมันหอมระเหยเพิ่มเติม และศึกษาในเชิงลึกมากขึ้น การศึกษาโดยส่วนมากเป็นการศึกษาฤทธิ์ขององค์ประกอบน้ำมันหอมระเหยจากออริกาโน และไทม์ ได้แก่ carvacrol และ thymol ซึ่งพบว่ามีหลายกลไกการทำงาน กลไกหนึ่งที่สำคัญคือน้ำมันหอมระเหยที่แทรกผ่านและเข้าไปสะสมในเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสมดุลของ ATP ภายในและภายนอกเซลล์ (intracellular and external ATP) ซึ่งมีความสำคัญเกี่ยวกับพลังงานในการทำกิจกรรมของเซลล์ โดยไปทำให้เกิดการลดลงของ ATP ภายในเซลล์ อย่างรวดเร็ว การซึมผ่านของโปรตอน และ inorganic phosphate ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เพิ่มมากขึ้น ทำให้เกิดเสียสมดุลออสโมซิส จึงเกิดภาวะคล้าย hydrolysis ของเซลล์ (Lambert et al., 2001) นอกจากนี้พบว่า carvacrol มีผลต่อการสร้างโปรตีนของเชื้อ *E. coli* O157:H7 โดยมีผลกระตุ้นการสร้าง heat shock protein (HSPs) ซึ่งเป็นโมเลกุลที่ปกติจะถูกกระตุ้นเมื่อเซลล์แบคทีเรียได้รับสารพิษ หรือภาวะเครียด และยังพบว่า carvacrol สามารถยับยั้งการสร้างโปรตีน flagellin ทำให้เชื้อไม่มี flagella ไม่สามารถเคลื่อนที่และเกาะติดเซลล์เยื่อบุในร่างกายสัตว์ได้ (Burt et al., 2007) นอกจากนี้ยังมีกลไกการทำงานอื่นๆที่ เช่น ผลต่อสารพันธุกรรมของเชื้อแบคทีเรีย รบกวนสมดุลกรด-ด่าง และผลต่อโมเลกุลที่ส่งสัญญาณของเซลล์ขนาดเล็ก (small signaling molecule) ซึ่งกำลังได้รับความสนใจในการศึกษามากขึ้น รวมถึงการศึกษาในน้ำมันหอมระเหยชนิดอื่นๆซึ่งอาจมีกลไกที่แตกต่างกัน

การใช้น้ำมันหอมระเหยจากพืชในการเป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์

มีการศึกษาที่ใช้น้ำมันหอมระเหยเป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากออริกาโนซึ่งมี thymol และ carvacrol เป็นส่วนประกอบหลัก พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากออริกาโน มีผลเพิ่มการเจริญเติบโตในไก่เนื้อ โดยมีผลเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ไคโมทริปซินในระบบทางเดินอาหาร ทำให้มีประสิทธิภาพของการย่อยโปรตีนดีขึ้น แต่ไม่มีผลเพิ่มระดับภูมิคุ้มกัน (Malayoglu et al., 2010) นอกจากนี้ ออริกาโนยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อบิดในไก่อีกด้วย (Giannenas et al., 2003) Jang และคณะ (2007) ทำการศึกษาโดยใช้ผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหยผสมที่มี thymol เป็นส่วนประกอบผสมในอาหารไก่เนื้อ เปรียบเทียบกับยา

ปฏิชีวนะ พบว่า การเสริมน้ำมันหอมระเหยผสมไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต แต่กลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันหอมระเหยในปริมาณสูง มีการทำงานของเอนไซม์จากตับอ่อน และลำไส้เล็กส่วนต้นเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าทั้งกลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันหอมระเหย และยาปฏิชีวนะ colistin มีจำนวนเชื้อ *E. coli* ในลำไส้ลดลง แต่ไม่มีผลต่อจำนวนเชื้อในกลุ่ม Lactobacilli ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์ จากการศึกษาที่ผ่านมาไม่นานนี้พบว่า การใช้น้ำมันหอมระเหยจากอบเชยที่มี cinnamaldehyde เป็นสารหลักผสมในอาหารไก่เนื้อ พบว่ามีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการต่อต้านอนุมูลอิสระ และลดระดับโคเลสเตอรอลทั้งในซีรั่ม และในเนื้อไก่ (Ciftci et al., 2010) ผลจากการลดระดับโคเลสเตอรอลและฤทธิ์ต้านปฏิกริยาออกซิเดชั่น ทำให้คาดหวังผลการพัฒนาคุณภาพของเนื้อไก่ที่มีปริมาณโคเลสเตอรอลต่ำและมีความคงตัวมากขึ้นได้ด้วย

เนื่องจากฤทธิ์ต้านจุลชีพของน้ำมันหอมระเหยทำให้มีความสนใจในการศึกษาพัฒนาสารสกัดน้ำมันหอมระเหยเพื่อใช้เป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์เพื่อทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะ นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากพืชบางชนิด เช่น ออริกาโนและอบเชยยังมีคุณสมบัติอื่นๆที่เป็นประโยชน์อีกด้วย เช่นการกระตุ้นการกินอาหาร และการหลั่งน้ำย่อย ต้านการเกิดอนุมูลอิสระ กระตุ้นภูมิคุ้มกัน เพิ่มความต้านทานโรค และมีผลต่อเมตาบอลิสมของไขมัน อย่างไรก็ตาม ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดถึงกลไกการออกฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยที่ใช้เป็นวัตถุเติมในอาหารเพื่อเพิ่มการเจริญเติบโต จากรายงานที่รวบรวมข้อมูลการศึกษาในสัตว์ปีกที่ผ่านมา ได้สรุปฤทธิ์หลักของน้ำมันหอมระเหย คือ มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ และ ปรับสมดุลของจุลชีพในลำไส้ กระตุ้นการกิน และปรับสภาวะของระบบย่อยอาหาร (digestive conditioning) นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านปฏิกริยาออกซิเดชั่นที่มีผลเพิ่มปริมาณอนุมูลอิสระในร่างกาย (Brenes and Roura, 2010)

ตะไคร้แกง (Lemongrass)

ข้อมูลทางพฤษศาสตร์พื้นฐานของตะไคร้แกง

ตะไคร้บ้าน หรือตะไคร้แกง (*Cymbopogon citratus* (DC.) *stapf.*) เป็นพืชในวงค์ Gramineae ซึ่งประกอบไปด้วย 660 สกุล 9000 ชนิด (Clayton, 1968) เจริญเติบโตได้เองตามธรรมชาติ พบมากในพื้นที่เขตร้อนชื้น ปลูกมากในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ไทย อินโดนีเซีย และพม่า ตะไคร้แกงเป็นพืชล้มลุก ลำต้นมีลักษณะทรงกระบอก มีความสูงประมาณ 1-2 เมตร เจริญรวมกันเป็นกอใหญ่ ขยายพันธุ์โดยการแตกกอ (นิจศิริ, 2534) ใบตะไคร้แกงเป็นใบเดี่ยว ใบเรียวยาวมีความกว้างประมาณ 2 เซนติเมตร ความยาวสูงสุดได้ถึง 100 เซนติเมตร ปลายใบแหลม สากมือทั้งสองด้าน เส้นกลางใบแข็ง ขอบใบมีขนเล็กน้อย เมื่อขยี้ใบจะมีกลิ่นหอมฉุนจากน้ำมันหอมระเหย ตะไคร้แกงออกดอกเป็นช่อกระจาย และมีผลขนาดเล็ก ซึ่งทั้งดอกและผลนี้มักมองไม่เห็น รากเป็นระบบรากฝอย ปลูกได้ในดินทุกชนิด ยกเว้นดินเหนียว และปลูกได้ทุกฤดูกาล (รุ่งรัตน์, 2540)

ภาพที่ 2-2 ลักษณะต้น หัว และใบตะไคร้แกง

ที่มา: http://www.rspg.or.th/plants_data/herbs/herbs_12_2.htm

การใช้ประโยชน์จากตะไคร้แกง

ตะไคร้เป็นแกงพืชสมุนไพรที่มีประโยชน์หลากหลาย ตั้งแต่ใช้ในการประกอบอาหาร มีสรรพคุณทางยาในการรักษาโรค และการใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรม โดยมีการรายงานเกี่ยวกับคุณค่าทางอาหารของตะไคร้แกงพบว่า ตะไคร้แกงส่วนที่ใช้รับประทาน 100 กรัม ให้พลังงาน 126 แคลอรี่ มีปริมาณสารอาหารประกอบด้วย น้ำร้อยละ 65.6 โปรตีน 1.2 กรัม คาร์โบไฮเดรต 25.5 กรัม เส้นใย 4.2 กรัม แคลเซียม 35 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัส 30 มิลลิกรัม เหล็ก 2.6 กรัม วิตามินเอ 427 หน่วย วิตามินบีหนึ่ง 0.05 มิลลิกรัม วิตามินบีสอง 0.02 มิลลิกรัม ไนอาซิน (niacin) 2.2 มิลลิกรัม และวิตามินซี 1 มิลลิกรัม (กระทรวงสาธารณสุข, 2530)

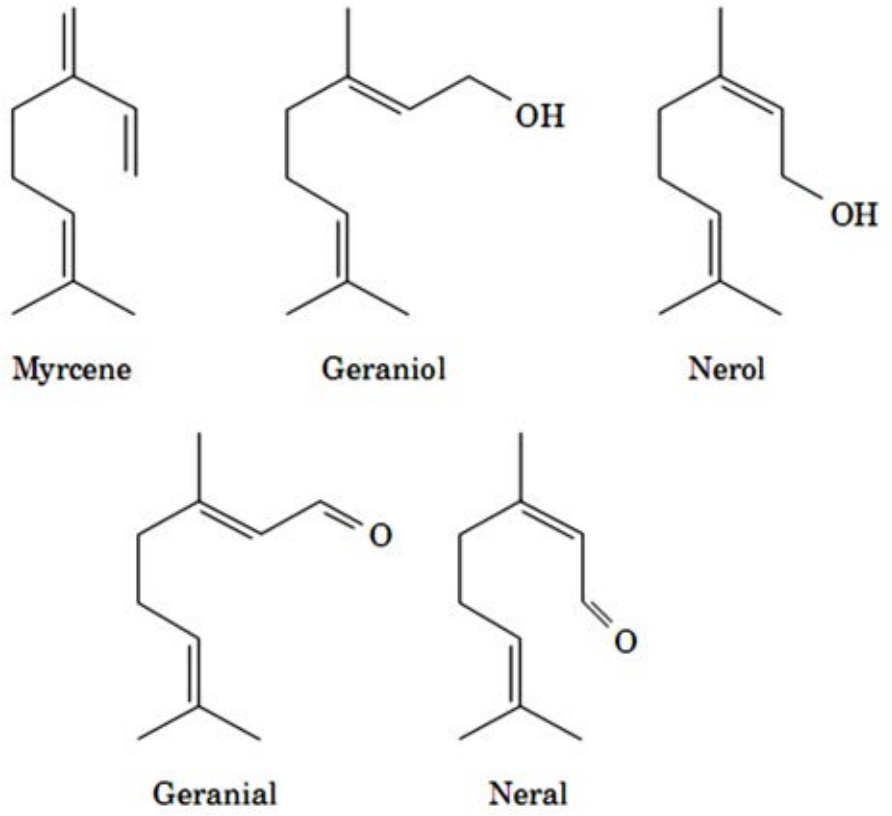
สรรพคุณทางยานั้นมีการนำตะไคร้แกงมาใช้ในการรักษาแบบพื้นบ้าน โดยรักษาอาการเกี่ยวกับระบบประสาท ความผิดปกติของทางเดินอาหาร เช่นปวดท้อง จุกเสียด ใช้ลดอักเสบ ลดปวด ลดไข้ และขับปัสสาวะ (Santin et al., 2009) รักษาสิว ลดอาการปวดกล้ามเนื้อ และลดอาการอักเสบคันของผิวหนัง เป็นต้น (Lawless, 1995) นอกจากนี้ยังมีการนำไปใช้รักษาสัตว์ โดยน้ำมันตะไคร้แกง มีฤทธิ์ต้านปรสิตทั้งภายในและภายนอก เช่น พยาธิ และหมัด หลายชนิด (Rim and Jee, 2006; Pedroso et al., 2006)

การใช้ประโยชน์ด้านอุตสาหกรรมโดยหลักใช้ส่วนของน้ำมันตะไคร้แกง เช่น ใช้ในอุตสาหกรรมน้ำหอม เครื่องสำอาง สปา อาหารสำเร็จรูปและเครื่องชูรส เครื่องดื่มและน้ำอัดลม เนื่องจากคุณสมบัติทางชีวภาพของน้ำมันตะไคร้แกงที่พบว่ามีฤทธิ์ต้านจุลชีพ ทั้งเชื้อรา (Wannissom, 1996) เชื้อแบคทีเรีย (Onawunmi, 1984; Naik et al., 2010) และยังมีคุณสมบัติไล่ยุง และแมลง (Govere et al., 2000) จึงมีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมเกี่ยวกับสุขภัณฑ์และยาดับกลิ่น ยาฆ่าแมลง และการถนอมอาหาร เป็นต้น

องค์ประกอบทางเคมี

ตะไคร้แกงมีองค์ประกอบทางเคมีอยู่ในรูปของน้ำมันหอมระเหย (essential oils) น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากตะไคร้แกง (น้ำมันตะไคร้แกง) มีองค์ประกอบหลักคือสาร citral พบร้อยละ 65-80 รองลงมา คือ myrcene พบร้อยละ 12-20 โดย citral ประกอบไปด้วยสารที่เป็นอนุพันธ์สองชนิดคือ neral (β-citrall) และ geranial (α-citral) นอกจากนี้ยังมีองค์ประกอบอื่นๆ เช่น limonene, citronellal, geraniol, linalool เป็นต้น (Guenther, 1950)

ปัจจัยที่ส่งผลต่อปริมาณสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ ส่วนของตะไคร้ คุณภาพของดิน และฤดูกาลที่ทำการปลูก โดยส่วนของใบจะเป็นส่วนที่มีปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากที่สุด และปริมาณที่ได้จากการสกัดจากใบอ่อนจะมากกว่าใบแก่ ในขณะที่ปริมาณ citral จะพบในใบแก่ (83%) มากกว่าใบอ่อน (77-79%) ปริมาณ citral จะสูงสุดเมื่อดินมีความชื้น 60-80% และตะไคร้แกงที่ปลูกในฤดูแล้งจะมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยจะมีมากที่สุด การปลูกที่อุณหภูมิต่ำปริมาณน้ำมันหอมระเหยจะลดลง (นันทวัน, 2530) น้ำมันตะไคร้ที่มีคุณภาพดีควรมี citral มากกว่า 75% (Guenther, 1950) การประเมินคุณภาพการผลิตน้ำมันตะไคร้ทำได้โดยการวัดชนิดและปริมาณของสารสำคัญด้วยวิธีการ Gas chromatography ที่ประกอบด้วย flame ionization detection (GC-FID) (Schaneberg and Khanj, 2002)



ภาพที่ 2-3 โครงสร้างทางเคมีของ myrcene, geraniol, nerol, geranial และ neral
ที่มา: Lewinsohn et al. (1998)

ข้อมูลทางเภสัชจลนศาสตร์

ถึงแม้ว่ายังไม่มีข้อมูลการศึกษาเกี่ยวกับเภสัชจลนศาสตร์ของน้ำมันตะไคร้แกง แต่มีรายงานการศึกษาถึงเภสัชจลนศาสตร์ของสาร monoterpenes หลายชนิด รวมทั้งสาร citral ที่สกัดมาจากตะไคร้แกง จากการศึกษาในหนูทดลอง พบว่าการได้รับสาร citral โดยการกิน จะมีการดูดซึมผ่านผนังลำไส้เล็ก และโดยส่วนใหญ่ (91-95%) ขับออกโดยไม่มีการเปลี่ยนแปลง พบว่ามีส่วนน้อยถูกเมตาบอไลซ์ที่ตับ ได้เมทาบอไลต์ 7 ชนิด ทั้งสาร citral และเมทาบอไลต์ถูกขับออกทางปัสสาวะเป็นหลัก (51%) รองมาคือทางปอด (17%) และอุจจาระ (12%) (Diliberto et al., 1988)

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของตะไคร้แกง

มีการศึกษาอย่างแพร่หลายทั้งภายนอกร่างกายและภายในร่างกายถึงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของตะไคร้แกง และน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากตะไคร้แกง รวมถึงสารที่เป็นองค์ประกอบหลักคือ citral และ myrcene

การศึกษาภายนอกร่างกายสัตว์ (in vitro)

การศึกษาเพื่อหากลไกอธิบายผลลดการอักเสบของน้ำมันตะไคร้แกงพบว่าสาร neral และ geranial ในน้ำมันตะไคร้แกงมีผลต่อการผลิต cytokines ที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน โดยมีผลยับยั้งการสร้าง IL-1β และ IL6 จากเซลล์ macrophage (Sforcin et al., 2009) สาร citral มีฤทธิ์กระตุ้นปฏิกิริยาของเอนไซม์ glutathione *S*-transferase (GST) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ช่วยลดสารพิษและต่อต้านสารก่อมะเร็งในเซลล์สัตว์ (Nakamura et al., 2003) นอกจากนี้ยังพบว่า citral, myrcene และ geraniol ยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในเซลล์เม็ดเลือดแดง (Cheel et al., 2005)

การศึกษาภายในร่างกายสัตว์ (in vivo)

น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้แกงมีฤทธิ์ลดไข้ แก้ปวด และลดการอักเสบ โดยพบว่าการฉีดน้ำมันตะไคร้แกงที่ได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำ เข้าช่องท้องหนูแรท (male Wistar rats) ที่ขนาด 40 มก./กก. สามารถลดอุณหภูมิร่างกายในหนูแรท และเมื่อป้อนปากที่ขนาด 15 มก./กก. สามารถลดการอักเสบของอุ้งเท้าหนูแรทที่เหนี่ยวนำด้วยคาราจีแนน (Carlini et al., 1986) น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้แกงยังมีฤทธิ์บรรเทาอาการปวดได้ด้วย เมื่อป้อนสารสกัดจากใบโดยการกิน หรือฉีดเข้าช่องท้องหนูถีบจักร (male Swiss mice) (Viana et al., 2000) การป้อนน้ำมันตะไคร้แกงในขนาด 100 มก./กก. ติดต่อกัน 21 วัน มีผลให้ระดับโคเลสเตอรอลในซีรั่มของหนูถีบจักร (male Swiss mice) ลดลง โดยไม่ส่งผลต่อน้ำหนักตัว และค่าชีวเคมีอื่นๆในเลือด (Costa et al., 2011) จากการศึกษาในหนูแรทที่ได้รับสารสกัดใบตะไคร้สดด้วยน้ำที่ขนาด 125-500 มก./กก. โดยการกินเป็นเวลา 42 วัน พบว่ามีผลลดระดับน้ำตาลในเลือดและระดับโคเลสเตอรอล มีการเพิ่มระดับไขมันชนิด high-density lipoprotein (HDL) แต่ไม่มีผลต่อระดับ triglycerides (Adeneye and Agbaje, 2007) น้ำมันตะไคร้แกงมีผลปกป้องการเสียหายของ DNA และ มีผลต้านการเกิดมะเร็งเต้านมที่เหนี่ยวนำโดยสารเคมีในหนูถีบจักร (female Balb/C mice) (Bidinotto et al., 2010) นอกจากนี้สารสำคัญของน้ำมันตะไคร้แกง citral มีฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระในสัตว์ทดลอง (Rabbani et al., 2006)

ฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันตะไคร้แกง

มีหลายการศึกษาที่รายงานถึงฤทธิ์ของน้ำมันตะไคร้แกงในการต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ซึ่งพบว่าน้ำมันตะไคร้แกงมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด ได้แก่ *Acinetobacter baumanii, Aeromonas veronii, Enterococcus faecalis, Escherichia coli, Klebsiella pneumonia, Salmonella enterica*, *Proteus vulgaris, Enterobacter aerogenes, Corynebacterium equii*, *Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Listeria monocytogenes* และ *Shigella dysenteriae* (Onawunmi et al., 1984; Naik et al., 2010; Bassole et al., 2011) แต่ไม่มีผลต่อเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* (Bassole et al., 2011)

Naik และคณะ (2010) ศึกษาฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียนอกร่างกายสัตว์ของน้ำมันตะไคร้แกง ต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, และ *Pseudomonas aeruginosa* โดยวิธี Agar well diffusion และหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันตะไคร้แกงที่ยับยั้งแบคทีเรีย (Minimal inhibitory concentration; MIC) ด้วยวิธี Broth dilution ผลทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งพบว่าน้ำมันตะไคร้แกงมีฤทธิ์ในการต้านการเจริญเติบโตของเชื้อที่นำมาศึกษา ยกเว้นเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* โดยฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียเพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้แกง(ตารางที่ 2-4) ค่า MIC และค่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำมันตะไคร้แกงที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Minimal bactericidal concentration; MBC) ที่ศึกษาโดยใช้น้ำมันตะไคร้แกงที่มีความเข้มข้น 0.5-0.015% พบว่า *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก มีความไวรับต่อน้ำมันตะไคร้แกงมากกว่า *Klebsiella pneumonia* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ (ตารางที่ 2-5)

ตารางที่ 2-4 ผลทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ด้วยวิธี Agar well diffusion

Organisms	Zone of inhibition (mm) / % Lemongrass					
	5%	10%	15%	20%	25%	30%
Staphylococcus aureus	14.33	19.33	22.33	24.66	27.33	29.66
Bacillus cereus	12.66	15.66	18.66	21.00	24.00	28.00
Bacillus subtilis	8.33	10.33	12.66	16.00	19.66	24.66
Escherichia coli	8.33	11.33	14.00	16.33	19.33	22.33
Klebsiella pneumonia	7.66	9.33	11.33	12.66	14.66	17.00
Pseudomonas aeruginosa	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

ที่มา: (Naik et al., 2010)

ตารางที่ 2-5 ค่า MIC และ MBC ของน้ำมันตะไคร้แกง ศึกษาที่ความเข้มข้น 0.5-0.015%

Organisms	Initial MIC (%) (at 24 hours)	Final MIC (%) (at 48 hours)	MBC (%)
Staphylococcus aureus	0.03	0.06	0.06
Bacillus cereus	0.03	0.06	0.06
Bacillus subtilis	0.03	0.06	0.12
Escherichia coli	0.06	0.12	0.12
Klebsiella pneumonia	0.25	0.50	0.50
Pseudomonas aeruginosa	ND	ND	ND

ND = non-detectable

ที่มา: (Naik et al., 2010)

ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียพบในสารสำคัญหลักคือ citral ทั้ง neral (β-citral) และ geranial (α-citral) ส่วนสารสำคัญย่อยอื่นๆได้แก่ linaiool, citronellal, citronellol และ geraniol มีฤทธิ์ต้านเชื้อได้บางชนิด สาร myrcene ที่มีอยู่ในน้ำมันตะไคร้แกง มากเป็นอันดับสองรองจาก citral พบว่าไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า การใช้สาร citral ร่วมกับ myrcene กลับมีประสิทธิภาพต้านเชื้อ *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* และ *Staphylococcus aureus* ได้ดีกว่าใช้ citral เพียงตัวเดียว แสดงให้เห็นว่า myrcene น่าจะมีบทบาทในการส่งเสริมประสิทธิภาพในการต้านเชื้อจุลชีพของ citral (Onawunmi et al., 1984)

การศึกษากลไกการทำงานในการต้านเชื้อจุลชีพของน้ำมันตะไคร้แกงยังมีอยู่จำกัด โดยมีรายงานการศึกษาในเชื้อ *Escherichia coli* โดยศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอน พบว่าน้ำมันตะไคร้แกงมีผลให้เซลล์ของแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง ผนังเซลล์ไม่สมบูรณ์ การพัฒนารูปร่างของเซลล์ผิดปกติไป และทำให้เซลล์แตกได้ (Ogunlana et al., 1987) ซึ่งมาจากการที่น้ำมันตะไคร้แกงสามารถแทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อ นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำมันตะไคร้แกงมี target ที่เกี่ยวข้องกับการรบกวนเมตาบอลิสมทั้งที่ผนังเซลล์ และในไซโตพลาสซึม ของเชื้อ *Staphylococcus aureus* (Takaisi-Kikuni et al., 1996)

การศึกษาความเป็นพิษของน้ำมันตะไคร้แกง

ตะไคร้แกงเป็นพืชสมุนไพรที่มีความปลอดภัยเนื่องจากใช้เป็นส่วนประกอบในการปรุงอาหารและใช้รักษาตามวิถีพื้นบ้านมาช้านาน โดยได้รับการจัดอยู่ในรายการของ GRAS (General Recognized as Safe) ที่ทางองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (USFDA) กำหนด (Wynn and Fougere, 2007) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงความเป็นพิษของสารสกัดน้ำมันตะไคร้แกง จากการศึกษาความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของสารสกัดใบตะไคร้แกงด้วยน้ำ พบว่ามีความปลอดภัยเมื่อให้โดยการกิน และผลการศึกษาเมื่อให้โดยการสัมผัสทางผิวหนัง พบว่าน้ำมันตะไคร้แกงระคายเคืองผิวหนังเพียงเล็กน้อย (Opdyke, 1976) หนูถีบจักรเพศเมียที่ได้รับการป้อนด้วยสารสกัดใบตะไคร้แกงด้วยน้ำที่ขนาด 20-40 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัม พบว่าไม่มีความเป็นพิษต่อตัวอ่อนและไม่มีผลต่อน้ำหนักตัว (Formigoni et al., 1986) ไม่พบความเป็นพิษเมื่อป้อนน้ำมันตะไคร้แกงที่ขนาด 1, 10 และ 100 มก./กก. แก่หนูถีบจักรเพศผู้ติดต่อกันเป็นเวลา 21 วัน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของน้ำหนักตัว น้ำหนักอวัยวะ ลักษณะทางจุลกายวิภาคของอวัยวะต่างๆ และไม่มีความเป็นพิษต่อยีน (Costa et al., 2011)

การใช้ตะไคร้แกงเป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์

มีการศึกษาก่อนหน้านี้ที่นำตะไคร้แกงมาใช้เป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์ที่ใช้บริโภคเป็นอาหาร เมื่อเลี้ยงไก่ด้วยใบตะไคร้แกงป่นผสมในอาหารไก่เนื้อด้วยอัตราส่วน 1% นาน 6 สัปดาห์ พบว่ามีผลเร่งการเจริญเติบโตของไก่ โดยประเมินจากการวัดปริมาณอาหารที่กิน และอัตราแลกเนื้อ ไก่ที่ได้รับใบตะไคร้แกงป่นมีอัตราการตายต่ำกว่ากลุ่มควบคุม และมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับกลุ่มที่ใช้ยาปฏิชีวนะ Terramycin เป็นวัตถุเติมในอาหาร (Mmereole, 2010) ผลการศึกษาของบงกช และคณะ (2546) พบว่าการใช้ตะไคร้แกงผงที่ขนาด 0-5 % ผสมในอาหารเลี้ยงไก่พื้นเมืองลูกผสม ในช่วงอายุสัปดาห์ที่ 7-14 เปรียบเทียบน้ำหนักตัว โดยชั่งน้ำหนักทุกสัปดาห์หลังเริ่มต้นให้

อาหารที่เสริมตะไคร้แกงป่น พบว่าน้ำหนักของไก่ทุกกลุ่มในแต่ละสัปดาห์จนจบการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้ผู้วิจัยได้วิจารณ์ว่าการที่ไม่พบความแตกต่างของน้ำหนักอย่างมีนัยสำคัญนั้น อาจเกี่ยวเนื่องกับปริมาณที่มากเกินไปของตระไคร้ผงที่ใส่ในสูตรอาหาร เนื่องจากตะไคร้ผงมีเส้นใยมาก (14.69%) โปรตีนและไขมันค่อนข้างต่ำ จึงมีผลรบกวนสูตรอาหาร ทำให้ไก่ได้รับสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตลดลง และยังแสดงความเห็นไว้ด้วยว่าการใช้สารสกัดจากตะไคร้ จะสามารถแก้ปัญหาเรื่องความฟ่ามในสูตรอาหาร นับว่าเป็นประเด็นที่น่าสนใจสำหรับการศึกษาต่อไป

ความสำคัญของการศึกษาครั้งนี้

เนื่องจากความต้องการสารจากธรรมชาติมาทดแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่มีมากขึ้นในปัจจุบัน นอกจากจะมีความสำคัญต่อคุณภาพของเนื้อและความปลอดภัยของผู้บริโภคแล้ว ยังมีความสำคัญต่อการยอมรับจากต่างประเทศในการส่งออก ทำให้มีการนำเข้าผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อเร่งการเจริญเติบโตที่เป็นสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากต่างประเทศมากขึ้น ทำให้ต้นทุนการผลิตเพิ่มมากขึ้นเนื่องจากผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีราคาสูง ทำให้ผู้วิจัยมีความสนใจที่จะศึกษาและพัฒนาสารสกัดจากสมุนไพรในประเทศไทย ตะไคร้แกงเป็นสมุนไพรไทยที่มีคุณประโยชน์หลากหลายดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น นอกจากนั้นยังมีการศึกษายืนยันถึงความปลอดภัย โดยเหตุที่ตะไคร้แกงเป็นพืชที่ปลูกง่าย ต้นทุนต่ำ และในปัจจุบันมีการสกัดน้ำมันตะไคร้แกงออกมาจำหน่ายและมีราคาไม่แพงมากนัก เนื่องจากข้อมูลการใช้ตะไคร้แกงในการเลี้ยงสัตว์ยังมีไม่มากนัก นอกจากนี้ยังไม่มีข้อมูลการใช้น้ำมันตะไคร้แกงเสริมอาหารในการเลี้ยงไก่ จึงทำให้มีความน่าสนใจในการศึกษาครั้งนี้ โดยทำการทดลองใช้น้ำมันตะไคร้แกงเสริมอาหารในไก่ และศึกษาผลที่สนใจ เช่นในเรื่องของการเจริญเติบโต ภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อวัคซีน การทำงานของเอนไซม์ช่วยย่อย ปริมาณเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ และลักษณะของผนังลำไส้ นอกจากนี้ยังทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมัน และค่าชีวเคมีในเลือด คาดว่าข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้น่าจะเป็นประโยชน์ในการพัฒนาต่อยอดการใช้น้ำมันตะไคร้แกงซึ่งเป็นพืชสมุนไพรไทยในการผลิตไก่ต่อไปในอนาคต เพื่อทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะและน้ำมันหอมระเหยที่นำเข้าจากประเทศแถบยุโรป

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

1. วัสดุและอุปกรณ์

1.1 สัตว์ทดลอง

1.1.1 การทดลองที่ 1

ไก่ไข่เพศเมียพันธุ์ Babcock B-380 อายุ 1 วัน จำนวน 52 ตัว แหล่งที่มา: โรงฟักไก่เกิดเจริญ จังหวัดฉะเชิงเทรา

1.1.2 การทดลองที่ 2

ไก่เนื้อเพศเมียพันธุ์ Cobb 500 อายุ 1 วัน จำนวน 144 ตัว แหล่งที่มา: ฟาร์มกรุงไทย จังหวัดชลบุรี

การใช้สัตว์ทดลองในการศึกษาวิจัยนี้ผ่านการพิจารณาการใช้สัตว์ทดลองจากคณะกรรมการจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลอง คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ใบอนุญาตเลขที่ 12310070 ลงวันที่ 28/9/2555 และ ใบอนุญาตเลขที่ 13310002 ลงวันที่ 25/1/2556 สำหรับการทดลองที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

1.2 สารทดสอบ

1.2.1 น้ำมันตะไคร้แกง

น้ำมันตะไคร้แกงได้จากแหล่งผลิตทางการค้า (บริษัทอุตสาหกรรมเครื่องหอมไทย-จีน จำกัด) วิเคราะห์ชนิดขององค์ประกอบทางเคมี และปริมาณของแต่ละองค์ประกอบของน้ำมันตะไคร้แกงด้วยวิธี Gas chromatography (ส่งตรวจห้องปฏิบัติการของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย) ผลการวิเคราะห์ร้อยละขององค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันตะไคร้แกงที่ใช้ในการศึกษานี้ แสดงในตารางที่ 3-1

ตารางที่ 3-1 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันตะไคร้แกงที่ใช้ในการทดลองที่ 1 (Batch no. 5604834/0205) และ การทดลองที่ 2 (Batch no. 5506615/2206)

องค์ประกอบทางเคมี	ร้อยละขององค์ประกอบของน้ำมันตะไคร้แกง	
	Batch no. 5604834/0205	Batch no. 5506615/2206
Geranial (α-citral)	45.62	45.10
Neral (β-citral)	34.65	33.93
Myrcene	8.65	7.67
Geraniol	2.92	4.30
6-methyl-5-hepten-2-one	1.83	1.99
Cis-ocimene	1.17	0.95
Geranyl acetate	1.03	1.61
Linalool	0.50	0.89

1.2.2 การเตรียมน้ำมันตะไคร้แกงเพื่อผสมอาหาร

เตรียมน้ำมันตะไคร้แกงให้อยู่ในรูปของสารผสมล่วงหน้า (premix) โดยนำน้ำมันตะไคร้แกงผสมกับกากข้าวหมักซึ่งใช้เป็นสื่อ จากนั้นผสมในอาหารโดยมีความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้แกงในขนาด 0, 100, 200 และ 400 มก./กก. อาหาร โดยที่อาหารทั้ง 4 สูตรจะมีปริมาณสื่อเท่ากันหมดแตกต่างกันเฉพาะปริมาณน้ำมันตะไคร้แกง

1.3 อาหาร

1.3.1 อาหารพื้นฐาน

อาหารพื้นฐานที่ใช้ในการทดลองที่ 1 และ 2 เป็นอาหารสำเร็จรูป ปราศจากยาปฏิชีวนะ จากบริษัทเจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน) โดยมีร้อยละของสารอาหารหลักแสดงในตารางที่ 3-2

ตารางที่ 3-2 แสดงร้อยละของคุณภาพของอาหารสัตว์ทางเคมีในอาหารไก่ที่ใช้ในการทดลองที่ 1 และ 2

คุณภาพของอาหารสัตว์ทางเคมี (%)	**การทดลองที่ 1**	**การทดลองที่ 2**	
		ไก่เล็ก (อายุ 1-21 วัน)	**ไก่รุ่น (อายุ 22-42 วัน)**
โปรตีน (ไม่ต่ำกว่า, min)	19	21	19
ไขมัน (ไม่ต่ำกว่า, min)	4	4	4
ใยอาหาร (ไม่เกิน, max)	5	5	5
ความชื้น (ไม่เกิน, max)	13	13	13

1.3.2 อาหารทดลอง

ในการทดลองที่ 1 และ 2 แต่ละกลุ่มการทดลองจะได้รับอาหารดังนี้

กลุ่มที่ 1 อาหารพื้นฐาน (กลุ่มควบคุม)

กลุ่มที่ 2 อาหารพื้นฐาน เสริมด้วยน้ำมันตะไคร้แกง 100 มก./กก.

กลุ่มที่ 3 อาหารพื้นฐาน เสริมด้วยน้ำมันตะไคร้แกง 200 มก./กก.

กลุ่มที่ 4 อาหารพื้นฐาน เสริมด้วยน้ำมันตะไคร้แกง 400 มก./กก.

1.4 เวชภัณฑ์ที่ใช้ในการทดลอง

1.4.1 การทดลองที่ 1

- วัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล ชนิดเชื้อเป็น สายพันธุ์ LaSota (Fort Dodge Animal Health, Fort Dodge, USA)

1.4.2 การทดลองที่ 2

- วัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล ชนิดเชื้อเป็น สายพันธุ์ ulster 2C (Fort Dodge, Campinas, Brazil)
- วัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล ชนิดเชื้อเป็น สายพันธุ์ B1 (Fort Dodge Animal Health, Fort Dodge, USA)

- วัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล ชนิดเชื้อตายสายพันธุ์ LaSota (Fort Dodge, Campinas, Brazil)
- วัคซีนป้องกันโรคเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ ชนิดเชื้อเป็น (Poulvac® Bursa V877, Fort Dodge, Campinas, Brazil)

1.5 สารเคมี

- Acetic acid 100% (Merck, USA)
- Amylase (Sigma Chemical Co., USA)
- BAPNA (Sigma Chemical Co., USA)
- BHT (Sigma Chemical Co., USA)
- Dimethysulfoxide (DMSO) (Merck, USA)
- Dinitrosalicylic acid (Sigma Chemical Co., USA)
- EMB gar (Difco, USA)
- Enterokinase (Sigma Chemical Co., USA)
- 40% formaldehyde (Carlo Erba reagents, Italy)
- Malondialdehyde (MDA) (Sigma Chemical Co., USA
- Maltose (standard) (Sigma Chemical Co., USA)
- MRS agar (Difco, USA)
- Phenol (Sigma Chemical Co., USA)
- Plate count agar (Difco, USA)
- Potassium chloride (KCl) (Merck, USA)
- *p*-nitroaniline (Sigma Chemical Co., USA)
- Sodium chloride (NaCl) (Merck, USA)
- Sodium sulfate (Merck, USA)
- Sodium hydroxide (Merck, USA)
- Sodium phosphate dibasic (Merck, USA)
- Sodium phosphate monobasic (Merck, USA)
- Sodium potassium tartrate tetrahydrate (Sigma Chemical Co., USA)
- Starch from potato (Sigma Chemical Co., USA)
- Thiobarbituric acid (TBA) (Sigma Chemical Co., USA)

- Trichloroacetic acid (TCA) (Merck, USA)
- Tris-HCl (Sigma Chemical Co., USA)
- Triton X-100 (Sigma Chemical Co., USA)

1.6 เครื่องมือ และอุปกรณ์

- Analytical balance (Sartorius analytic, Germany)
- Autoclave (Sanyo, Labo Autoclave MLS-3020, Japan)
- Centrifuge (Hettich®, Germany)
- Heat block incubator (Labnet® Vortemp 56, USA)
- Incubator (Memmert Model INE 800, Germany)
- Microtube (Hycon plastics, USA)
- Sterile Petri dishes (Hycon plastics, USA)
- pH meter (Hanna, Italy)
- Spectrophotometer (Biotac® Powerwave XS2, USA)
- Syringe and needle (Nipro Medical Corporation, Japan)
- Tissue grinder (Thomas®, USA)
- Vortex (Scientific industries, USA)

2. **วิธีการทดลอง**

2.1 การทดลองที่ 1:

การศึกษาเบื้องต้นของการใช้น้ำมันตะไคร้แกงเสริมอาหารในไก่ ต่ออัตราการเจริญเติบโต ภูมิคุ้มกัน จำนวนแบคทีเรียในลำไส้ ลักษณะของผนังลำไส้ และปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันในเลือด

2.1.1 สัตว์ทดลอง และอาหารทดลอง

ไก่ไข่เพศเมียพันธุ์ Babcock B-380 อายุ 1 วัน จำนวน 52 ตัว แบ่งเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 13 ตัว วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) ตลอดการทดลอง ไก่ได้รับอาหารแบบกินเต็มที่ (*ad libitum*) มีน้ำสะอาดให้กินตลอดเวลา ให้วัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลชนิดเชื้อเป็น โดยวิธีการหยอดจมูก เมื่อไก่อายุ 28 วัน เลี้ยงเป็นระยะเวลา 56 วัน ไก่ทั้ง 4 กลุ่มการทดลองได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของน้ำมันตะไคร้แกงแตกต่างกัน ตามที่ระบุไว้ในหัวข้ออาหารทดลอง (ข้อ 1.3.2)

2.1.2 การบันทึกผลการทดลอง และเก็บตัวอย่าง

ชั่งน้ำหนักไก่สัปดาห์ละครั้งเพื่อวัดการเจริญเติบโต เจาะเลือดเพื่อตรวจระดับภูมิคุ้มกันที่อายุ 28, 42, 49 และ 56 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองจะทำการเก็บตัวอย่างเลือดไก่ทุกตัวเพื่อตรวจวัดการต้านออกซิเดชั่นของไขมัน และทำการุณยฆาตด้วยวิธีการดึงคอ (cervical dislocation) ทำการผ่าซาก ชั่งน้ำหนักอวัยวะภายใน และเก็บ content ในลำไส้เล็ก เพื่อตรวจนับเชื้อแบคทีเรีย และส่วนของลำไส้เพื่อตรวจดูลักษณะจุลกายวิภาคของลำไส้

2.1.3 การวัดการเจริญเติบโต และน้ำหนักอวัยวะ

บันทึกน้ำหนักไก่ที่อายุ 1 วัน และชั่งน้ำหนักสัปดาห์ละครั้ง เมื่อสิ้นสุดการทดลองชั่งน้ำหนักอวัยวะภายใน ได้แก่ หัวใจ ตับ กระเพาะบด ม้าม และตับอ่อน คำนวณเป็นร้อยละของน้ำหนักตัว

2.1.4 การวัดระดับภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล

เจาะเลือดไก่ทุกตัวเพื่อตรวจระดับภูมิคุ้มกันก่อนและหลังให้วัคซีนที่อายุ 28, 42, 49 และ 56 วัน นำตัวอย่างเลือดไปปั่นแยกซีรั่มด้วยเครื่อง centrifuge ที่ 1,500 g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นนำซีรั่มที่แยกได้ไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการวิเคราะห์ วัดระดับ antibody titers ที่ตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิลด้วยวิธี Hemagglutination-inhibition (HI) test

2.1.5 การศึกษาผลในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมัน (lipid peroxidation)

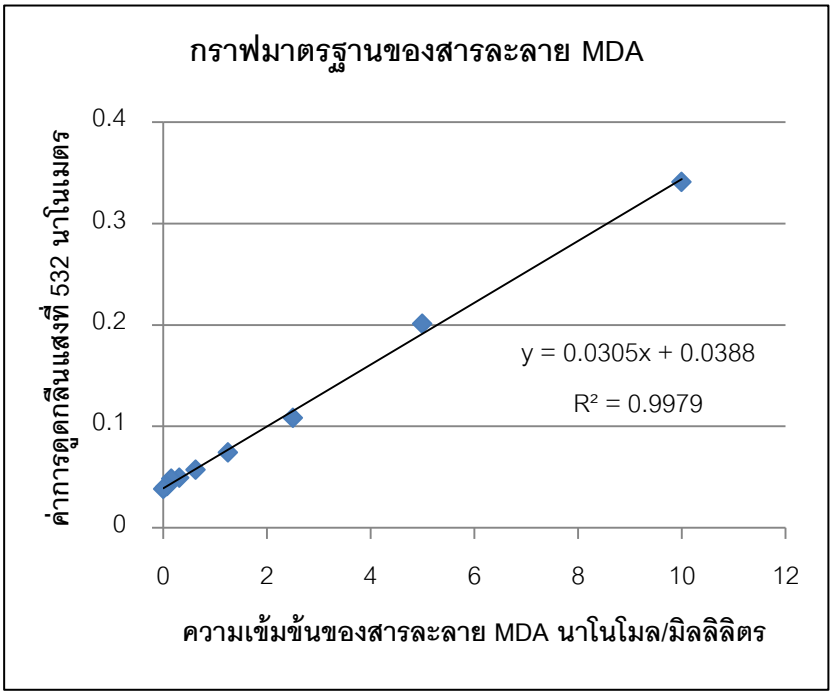
ปฏิกิริยา lipid peroxidation เกิดจากการที่ reactive oxygen species (ROS) เข้าจับและทำลายสารชีวโมเลกุลอย่างเฉียบพลัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งโมเลกุลของกรดไขมันไม่อิ่มตัว (polyunsaturated fatty acid, PUFA) ซึ่งจากปฏิกิริยาดังกล่าวทำให้เกิดสารกลุ่มอัลดีไฮด์ ได้แก่ malondialdehyde (MDA) ซึ่งสามารถตรวจวัดได้โดยการทำปฏิกิริยากับ thiobarbituric acid (TBA) เกิดเป็นสารที่เรียกว่า TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) ที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 532 นาโนเมตร (Placer et al., 1966)

2.1.5.1 การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างเลือดไก่ที่อายุ 42 วัน ในหลอดเก็บเลือดที่ไม่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด จากนั้นนำมาปั่นแยกซีรั่มด้วยเครื่อง centrifuge ที่ 1,500 g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แยกซีรั่มเก็บแช่แข็งที่ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการวิเคราะห์

2.1.5.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมัน ดัดแปลงจากวิธีของ Placer และคณะ (1966)

นำตัวอย่างซีรั่ม 100 ไมโครลิตร ใส่ลงใน microtube ขนาด1.5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย trichloroacetic acid (TCA) 15% จำนวน 200 ไมโครลิตร และสารละลาย 2,6-di-wert-butyl-4-methylphenol (BHT) 3.3 mM จำนวน 40 ไมโครลิตร จากนั้นปั่นแยกด้วยเครื่อง centrifuge ที่ 8000 g นาน 3 นาที แล้วดูดส่วน supernatant ออกมา 200 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย TBA 0.67% จำนวน 200 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร ค่า MDA ที่ได้มีหน่วยเป็น นาโนโมล/มิลลิลิตร ของซีรั่ม โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของ MDA (ภาพที่ 3-1)



ภาพที่ 3-1 แสดงกราฟมาตรฐานของสาร MDA จากการทดลองที่ 1

2.1.6 การตรวจนับเชื้อแบคทีเรียจาก content ในลำไส้เล็ก

2.1.6.1 การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างลำไส้เล็กจากไก่ 5 ตัวต่อกลุ่มการทดลอง โดยเก็บชิ้นเนื้อตั้งแต่ส่วนท้ายของลำไส้เล็กส่วนต้นจนถึงลำไส้เล็กส่วนปลาย แช่น้ำแข็งตลอดการขนส่งไปยังห้องปฏิบัติการ

2.1.6.2 วิธีการทดลอง

ชั่ง content จากในลำไส้ปริมาณ 1 กรัม เจือจางในน้ำเกลือปลอดเชื้ออัตราส่วน 1 ต่อ 9 แล้วทำการเจือจางด้วยน้ำเกลือปลอดเชื้อต่อไปอีก โดยที่เจือจางลงครั้งละ 10 เท่าให้ได้สารละลายเจือจางของเชื้อที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 10^{-1} ถึง 10^{-7} จากนั้นนำสารละลายเจือจางของเชื้อแต่ละความเข้มข้น จำนวน 1 มิลลิลิตรใส่ลงบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อ สำหรับการนับจำนวน เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจน (aerobic bacteria) ทั้งหมด โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (PCA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำการนับจำนวนโคโลนีที่ขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเลือกนับจากจานเพาะเชื้อที่มี 30 ถึง

300 โคโลนี ทำซ้ำ 2 ครั้งในแต่ละตัวอย่างแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย รายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อ 1 กรัมของ content ในลำไส้ (colony forming unit/g; CFU/g)

2.1.7 การศึกษาลักษณะจุลกายวิภาคของผนังลำไส้เล็ก

เก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อลำไส้จากไก่ 3 ตัวอย่างต่อกลุ่มการทดลอง โดยแยกลำไส้เล็กส่วนกลางทั้งหมดออกมาก่อน จากนั้นเลือกเก็บชิ้นเนื้อที่ตำแหน่งกึ่งกลางของความยาวทั้งหมด โดยตัดให้ได้ความยาว 2 เซนติเมตร ใส่ลงใน 10 % Buffered Formalin แช่นาน 24-48 ชั่วโมง จากนั้นปฏิบัติตามขั้นตอนตามวิธีทางจุลกายวิภาค (histological technique) ย้อมด้วยสี haematoxylin-eosin เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเยื่อบุผิวของทางเดินอาหาร โดยวัดความสูงของวิลลัส และความลึกของคริปท์ (crypt of Lieberkuhn) โดยสุ่มนับจากวิลลัสและคริปท์จำนวน 15 อันจาก 3 ตำแหน่งในแต่ละสไลด์เนื้อเยื่อ ใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายวัตถุ 20 เท่า วัดขนาดโดยใช้ micrometer (Geyra et al., 2001) จากนั้นคำนวณอัตราส่วนระหว่างความสูงของวิลลัสต่อความลึกของคริปท์

2.2 การทดลองที่ 2:

การศึกษาผลของการใช้น้ำมันตะไคร้แกงเสริมอาหารในไก่เนื้อ ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต น้ำหนักอวัยวะภายใน ระดับภูมิคุ้มกัน ค่าชีวเคมีและการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันในเลือด การทำงานของเอนไซม์จากตับอ่อน จำนวนเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ และลักษณะของผนังลำไส้

2.2.1 สัตว์ทดลอง และอาหารทดลอง

ไก่เนื้อเพศเมียพันธุ์ Cobb 500 อายุ 1 วัน จำนวน 144 ตัว แบ่งเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 36 ตัว โดยในแต่ละกลุ่มจะแบ่งเป็น 6 ซ้ำๆละ 6 ตัว เพื่อชั่งปริมาณอาหาร วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด ไก่จะได้รับอาหารแบบกินเต็มที่ (*ad libitum*) มีน้ำสะอาดให้กินตลอดการทดลอง ให้วัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลชนิดเชื้อเป็นร่วมกับชนิดเชื้อตายเมื่อไก่อายุ 1 วัน และทำซ้ำด้วยวัคซีนชนิดเชื้อเป็นที่อายุ 7 วัน และให้วัคซีนป้องกันโรคเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ เมื่อไก่อายุ 18 วัน เลี้ยงเป็นระยะเวลา 42 วัน ไก่ทั้ง 4 กลุ่มการทดลองได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของน้ำมันตะไคร้แกงแตกต่างกัน ตามที่ระบุไว้ในหัวข้ออาหารทดลอง (ข้อ 1.3.2)

2.2.2 การบันทึกผลการทดลอง และเก็บตัวอย่าง

ชั่งน้ำหนักไก่ และปริมาณอาหารเพื่อวัดการเจริญเติบโต และเจาะเลือดเพื่อตรวจระดับภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อวัคซีน เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อ

ตรวจวัดการต้านออกซิเดชั่นของไขมัน ตรวจนับเม็ดเลือดและค่าชีวเคมีในเลือด จากนั้นสุ่มไก่กลุ่มละ 15 ตัว ทำการุณยฆาตด้วยวิธีการดึงคอ (cervical dislocation) ทำการผ่าซาก ชั่งน้ำหนักอวัยวะภายใน และเก็บตัวอย่างตับอ่อนเพื่อนำไปวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์ย่อยอาหาร และเก็บลำไส้เพื่อตรวจนับจำนวนเชื้อแบคทีเรีย และศึกษาลักษณะของผนังลำไส้

2.2.3 สมรรถนะการเจริญเติบโต

บันทึกน้ำหนักไก่ที่อายุ 1 วัน และสัปดาห์ละครั้ง บันทึกปริมาณอาหารที่กินทุกสัปดาห์ ดัชนีชี้วัดการเจริญเติบโตได้แก่ น้ำหนักตัวไก่แต่ละสัปดาห์ (weekly body weight) ปริมาณอาหารที่ไก่กิน (feed intake) และคำนวณอัตราแลกเนื้อ (feed conversion ratio)

2.2.4 น้ำหนักอวัยวะ

ชั่งน้ำหนักอวัยวะ ได้แก่ ตับ กระเพาะบด ตับอ่อน ม้าม หัวใจ และเบอร์ซ่า จากนั้นคำนวณเป็นร้อยละของน้ำหนักตัว ส่วนตับอ่อนจะเก็บแช่แข็งทันทีเพื่อนำไปวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์ย่อยอาหารต่อไป

2.2.5 การวัดระดับภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อการทำวัคซีน

เจาะเลือดไก่เพื่อตรวจระดับภูมิคุ้มกันก่อนให้วัคซีนที่อายุ 1 วัน และหลังให้วัคซีนที่อายุ 7, 14, 28 และ 42 วัน สำหรับตรวจระดับแอนติบอดี ต่อวัคซีนนิวคาสเซิล และเก็บตัวอย่างเลือดไก่ที่อายุ 18, 28 และ 35 วัน สำหรับตรวจระดับ antibody titer ต่อวัคซีนป้องกันโรคเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ โดยการเก็บตัวอย่างเลือด 18 ตัวอย่างต่อกลุ่มการทดลอง (สุ่มเก็บจากไก่ 3 ตัวในแต่ละซ้ำ) จากนั้นนำตัวอย่างเลือดไปปั่นแยกซีรั่มด้วยเครื่อง centrifuge ที่ 1,500 g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นนำซีรั่มที่แยกแล้วแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการวิเคราะห์ วัดระดับ antibody titer ที่ตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิลและโรคเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ ด้วยวิธี HI test และ ELISA (IBD antibody ELISA kit , Synbiotics®, Synbiotics, Corp., U.S.A.) ตามลำดับ

2.2.6 การศึกษาผลในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมัน

เก็บตัวอย่างเลือด18 ตัวอย่างต่อกลุ่มการทดลอง (สุ่มเก็บจากไก่ 3 ตัวในแต่ละซ้ำ) การเก็บตัวอย่าง และวิธีวิเคราะห์ เหมือนข้อ 2.1.5

2.2.7 การตรวจนับเม็ดเลือด และค่าชีวเคมีการทำงานของตับ และไต

เก็บตัวอย่างเลือดในวันสุดท้ายของการทดลอง โดยการเก็บตัวอย่างเลือด 12 ตัวอย่างต่อกลุ่มการทดลอง (สุ่มเก็บจากไก่ 2 ตัวในแต่ละซ้ำ) ใช้หลอดเก็บเลือดที่มีสาร EDTA เป็นสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดสำหรับการตรวจนับเม็ดเลือดแดง และเม็ดเลือดขาวทั้งหมด ส่วนการตรวจค่าชีวเคมีในเลือดได้แก่ เอนไซม์ SGPT, SGOT และ creatinine โดยใช้หลอดที่มี heparin เป็นสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด จากนั้นนำไปวิเคราะห์โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์โลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีในเลือดมาตรฐาน (หน่วยโลหิตวิทยา โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)

2.2.8 การวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์จากตับอ่อน

2.2.8.1 การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างตับอ่อนทันทีหลังจากทำการผ่าซาก โดยการเก็บตัวอย่างตับอ่อน 12 ตัวอย่างต่อกลุ่มการทดลอง (สุ่มเก็บจากไก่ 2 ตัวในแต่ละซ้ำ) ชั่งน้ำหนักแล้วแช่น้ำแข็งตลอดการขนส่ง จากนั้นเก็บในตู้แช่ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะดำเนินการต่อไป

2.2.8.2 การเตรียมตัวอย่าง

ดัดแปลงจากวิธีของ Liu และ Markakis (1989)

นำตับอ่อนมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วชั่งมาตามจำนวนที่ต้องการ ใส่ลงในหลอดทดลองที่อยู่ในอ่างน้ำแข็ง เติม isolation buffer (0.05 M TRIS with 0.154 M KCl pH 7.5, 1% triton X100) ที่เย็น อัตราส่วน tissue: buffer เท่ากับ1:5 (กรัม/มิลลิลิตร) บดให้ละเอียดด้วย tissue grinder จากนั้นค่อยๆเติม buffer จนครบ แล้วเทใส่ microtube และนำไป centrifuge ที่ 4000 รอบต่อนาที ที่ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที เก็บเอาของเหลวส่วนบน (supernatant) แช่แข็งที่ - 20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการวิเคราะห์

2.2.8.3 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

นำตัวอย่าง (sample supernatant) มาวิเคราะห์หาปริมารโปรตีน ด้วยวิธี biuret method โดยมีหลักการ คือ biuret reagent ทำปฏิกิริยากับ peptide bond เกิดสารสีม่วงที่สามารถตรวจวัดได้ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

2.2.8.4 การวิเคราะห์ α-amylase activity

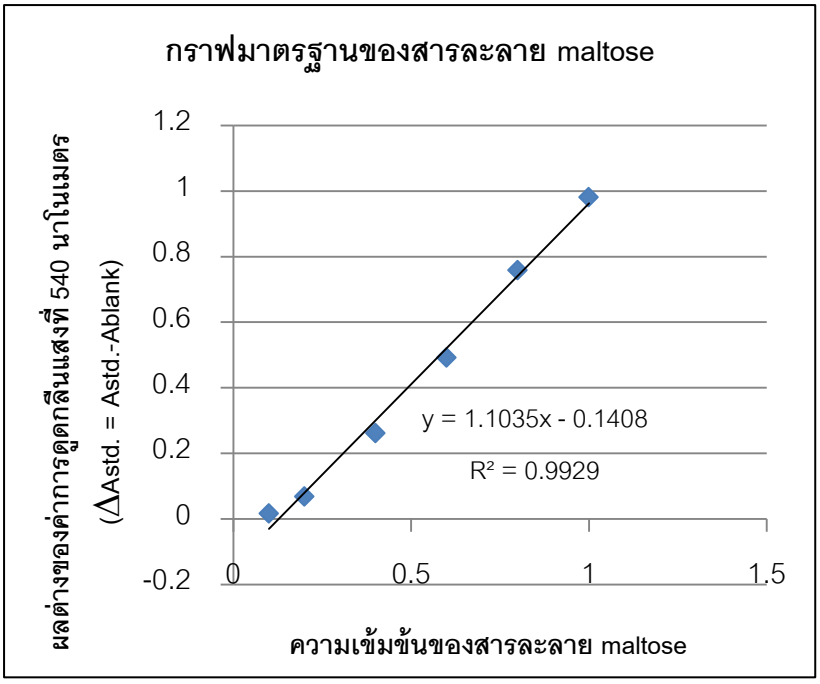
α-amylase เป็นเอนไซม์ที่ไปทำหน้าที่ในการย่อยแป้ง โดยเร่งปฏิกิริยา hydrolysis ที่ alpha 1-4 glycosidic linkages ของแป้ง ได้เป็น maltose และ dextrin ซึ่ง maltose เป็น reducing sugars ที่มี free carbonyl group (C=O) ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยา reduction กับ 3, 5-dinitrosalicylic acid ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความเข้มของสี ซึ่งสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร หลักการวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์ ใช้แป้ง (starch) เป็นสารตั้งต้นทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ในตัวอย่าง เกิดผลิตภัณฑ์ที่เป็น reducing sugar มาทำปฏิกิริยากับ dinitrosalicylic acid color reagent (DNS reagent) โดยจำนวน reducing sugar ที่เกิดขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับการทำงานของเอนไซม์ (Bernfeld, 1995)

วิธีวิเคราะห์ α-amylase activity assay โดยใช้ DNS reagent ประยุกต์จากวิธีของ Bernfeld (1995) และ Adisakwattana และคณะ (2009)

นำตัวอย่าง (sample supernatant) มาเจือจางด้วย assay buffer ในอัตราส่วน 1:10 จากนั้นใช้ตัวอย่างที่เจือจางแล้วจำนวน 75 ไมโครลิตร เติมลงในหลอดทดลองที่มีสารตั้งต้นคือ สารละลายแป้ง 1% จำนวน 75 ไมโครลิตร เติม 0.1 M phosphate buffer saline (PBS) pH 6.9 จำนวน 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex จากนั้นบ่มไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วเติม DNS reagent จำนวน 250 ไมโครลิตร แล้วบ่มที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย sodium potassium tartarate 40% จำนวน 250 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดย spectrophotometer ที่ 540 นาโนเมตร คำนวณปริมาณของ reducing sugar ที่เกิดขึ้นจากกราฟมาตรฐานของ maltose โดยแสดงผลการวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์เป็น ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน (U/mg protein) โดยแต่ละตัวอย่างจะทำซ้ำ 3 ครั้ง (triplicate) ทำตัวควบคุม และตัวควบคุมเชิงบวกควบคู่กันไปด้วย ดังตารางที่ 3-3

ตารางที่ 3-3 แสดงขั้นตอนการวิเคราะห์ α-amylase activity โดยใช้ DNS reagent

สาร (ไมโครลิตร)	ตัวอย่างทดสอบ (test) (ไมโครลิตร)	ตัวควบคุม (Blank) (ไมโครลิตร)	ตัวควบคุมเชิงบวก (Positive control) (ไมโครลิตร)
1% Starch	75	75	75
0.1 M PBS pH	100	100	100
Enzyme	(sample) 75	-	(amylase 3U/ml) 75
บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที			
DNS reagent	250	250	250
Enzyme	---	(sample) 75	---
บ่มที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที			
40% sodium potassium tartarate	250	250	250
วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm			



ภาพที่ 3-2 แสดงกราฟมาตรฐานของสาร maltose ในช่วงความเข้มข้น 0-1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

2.2.8.5 **การวิเคราะห์** Trypsin activity

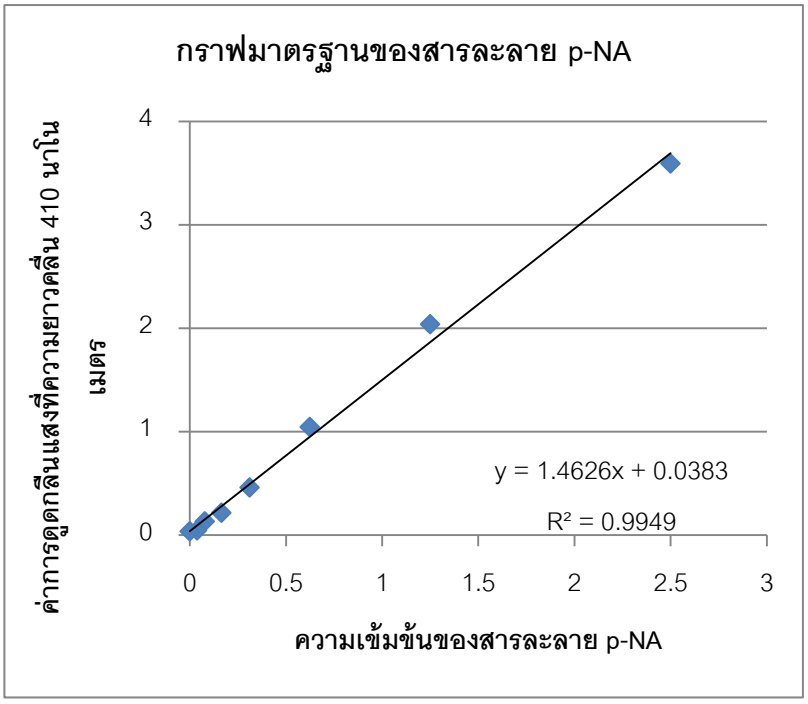
Trypsin เป็นเอนไซม์ serine protease ทำงานในระบบย่อยอาหาร ผลิตจากตับอ่อนในรูปของ inactive proenzyme trypsinogen เมื่อหลั่งออกมาจะถูกกระตุ้นให้เป็น active form ด้วยเอนไซม์ enterokinase ที่ลำไส้เล็กส่วนต้น หลักการทำงานของ trypsin เกิดขึ้นโดยไปตัดย่อยสาย peptide ที่ carboxyl side ของกรดอะมิโน lysine และ arginine การวิเคราะห์การทำงานของ trypsin ทำได้หลายวิธี โดยแตกต่างกันที่สารตั้งต้นที่จะนำมาทำปฏิกิริยา และการตรวจวัด ซึ่งในการศึกษานี้ใช้ *N*-a-benzoyl-DL-arginine-*p*-nitroanilide (BAPNA) เป็นสารตั้งต้น ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับ trypsin ในตัวอย่าง ได้ผลผลิตเป็น *p*-nitroaniline (p-NA) ที่มีสีเหลือง ที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร โดยปริมาณ p-NA ที่เกิดขึ้น เป็นสัดส่วนโดยตรงกับการทำงานของเอนไซม์

วิธีการวิเคราะห์ trypsin activity โดยใช้ BAPNA เป็นสารตั้งต้น ประยุกต์จากวิธีของ Liu และ Markakis (1989) และ Hua และ Benjakul (2006)
นำตัวอย่าง (sample supernatant) มาเจือจางด้วย assay buffer (0.05 M TRIS with 0.154 M KCl pH 7.5) ในอัตราส่วน 1:10 จากนั้นกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยน trypsinogen เป็น trypsin โดยการเติม 1% enterokinase ลงในตัวอย่าง ในอัตราส่วน 1:1 แล้วบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

นำตัวอย่างที่กระตุ้นแล้ว (activated sample) จำนวน 100 ไมโครลิตร ทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้น BAPNA 200 ไมโครลิตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย acetic acid 30% จำนวน 200 ไมโครลิตร เพื่อหยุดปฏิกิริยา วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร คำนวณปริมาณผลผลิตที่เกิดขึ้นโดยเทียบจาก กราฟมาตรฐานของ p-NA แสดงผลการวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์เป็น ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน (U/mg protein) โดยแต่ละตัวอย่างจะทำซ้ำ 3 ครั้ง (triplicate) และทำตัวควบคุม และตัวควบคุมเชิงบวกควบคู่กันไปด้วย ดังแสดงไว้ในตารางที่ 3-4

ตารางที่ 3-4 แสดงขั้นตอนการวิเคราะห์ trypsin activity โดยใช้ BAPNA เป็นสารตั้งต้น

สาร (ไมโครลิตร)	ตัวอย่างทดสอบ (test) (ไมโครลิตร)	ตัวควบคุม (Blank) (ไมโครลิตร)	ตัวควบคุมเชิงบวก (Positive control) (ไมโครลิตร)
Activated sample	50	-	(Trypsin 1%) 50
Assay buffer	-	50	-
BAPNA	200	200	200
บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที			
30% acetic acid	200	200	200
วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 nm			



ภาพที่ 3-3 แสดงกราฟมาตรฐานของสาร p-NA ในช่วงความเข้มข้น 0-3 นาโนโมล/มิลลิลิตร

2.2.9 **การตรวจนับเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ Lactobacilli ในลำไส้**

หลังจากทำการการุณยฆาตแล้วเก็บตัวอย่างลำไส้เล็กส่วนกลาง และส่วนปลายของไก่ 6 ตัวอย่างต่อกลุ่มการทดลอง (สุ่มเก็บจากไก่ 1 ตัวในแต่ละซ้ำ) ใส่ถุงพลาสติกปลอดเชื้อ และมัดปากถุงให้แน่น นำไปแช่น้ำแข็งตลอดการขนส่งไปยังห้องปฏิบัติการ ใช้ content จากลำไส้ปริมาณ 1 กรัมเจือจางในน้ำเกลือปลอดเชื้อในอัตราส่วน 1 ต่อ 9 แล้วทำการเจือจางต่อให้เจือจางเป็น 10 เท่าตามลำดับ กำหนดให้มีความเข้มข้นตั้งแต่ 10^{-1}ถึง 10^{-7} จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ ดังนี้

2.2.9.1 **การนับจำนวนเชื้อ *E. coli***

เพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Eosin-Methylene Blue Agar (EMB agar) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง

2.2.9.2 **การนับจำนวนเชื้อในกลุ่ม** Lactobacilli

ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด MRS agar ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง

นับจำนวนโคโลนีที่ขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเลือกนับจากจานเพาะเชื้อที่มี 30 ถึง 300 โคโลนี ทำซ้ำ 2 ครั้งในแต่ละตัวอย่าง แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย รายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อ 1 กรัมของ content ในลำไส้ (colony forming unit/g; CFU/g)

2.2.10 **การศึกษาลักษณะจุลกายวิภาคของลำไส้**

เก็บตัวอย่างลำไส้เล็กส่วนกลาง ของไก่ 6 ตัวอย่างต่อกลุ่มการทดลอง (สุ่มเก็บจากไก่ 1 ตัวในแต่ละซ้ำ) การเก็บตัวอย่างและการวิเคราะห์เหมือนข้อ 2.1.7

3. **การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ**

คำนวณค่าเฉลี่ย และความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (S.E.M.) ของแต่ละพารามิเตอร์ จากนั้นหาความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลองของค่าน้ำหนักตัวไก่ ปริมาณการกิน อัตราแลกเนื้อ น้ำหนักอวัยวะ ระดับแอนติบอดีในซีรั่ม การต้านออกซิเดชั่นของไขมัน ค่าเม็ดเลือดและชีวเคมีในเลือด ระดับการทำงานของเอนไซม์จากตับอ่อน จำนวนเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ และอัตราส่วนระหว่างความสูงของวิลลัสต่อความลึกของคริปท์ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่ม โดยวิธี Duncan's multiple range test กำหนดให้มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P<0.05$)

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. การศึกษาเบื้องต้นของการใช้น้ำมันตะไคร้แกงเสริมอาหารในไก่ไข่

1.1 ผลต่อการเจริญเติบโต (Body weight)

ผลการศึกษาพบว่าน้ำหนักตัวเฉลี่ยของไก่แต่ละกลุ่ม ที่อายุ 1, 7,14, 21, 28, 35, 42, 49 และ 56 วัน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตลอดการทดลอง อย่างไรก็ตามพบว่าน้ำหนักตัวของไก่ที่ได้รับน้ำมันตะไคร้แกงเสริมในอาหาร มีแนวโน้มมากกว่ากลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4-1)

1.2 น้ำหนักอวัยวะ (organ weight)

ผลการชั่งน้ำหนักอวัยวะภายในคำนวณเป็นร้อยละของน้ำหนักตัว พบว่าน้ำหนักอวัยวะของหัวใจ ม้าม และตับ ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมด้วยน้ำมันตะไคร้แกงทั้งสามขนาด ในขณะที่น้ำหนักของตับอ่อนของกลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้ในอาหารมีน้ำหนักของตับอ่อนมากกว่ากลุ่มควบคุม โดยกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมน้ำมันตะไคร้ในอาหารขนาด 400 มก./กก. มีน้ำหนักตับอ่อนมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในส่วนของกระเพาะบดพบว่า เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม น้ำหนักของกระเพาะบดเฉลี่ยของกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมด้วยน้ำมันตะไคร้แกงทั้งสามขนาดต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 4-2) นอกจากนี้การสังเกตลักษณะภายนอกของอวัยวะต่างๆของไก่แต่ละกลุ่มการทดลองไม่พบว่ามีความผิดปกติ หรือมีพยาธิสภาพแต่อย่างใด

ตารางที่ 4-1 แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวไก่ของแต่ละกลุ่มการทดลอง ที่อายุ 1, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 และ 56 วัน

กลุ่มการทดลอง *	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัว (กรัม)								
	1 วัน	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน	35 วัน	42 วัน	49 วัน	56 วัน
CON	42	83.5±1.73	142.3±2.27	229.5±2.71	330.7±5.01	426.9±7.34	555.4±8.88	676.9±10.15	784.6±8.36
LO 100	42	84.2±2.11	144.31±2.67	235.69±4.65	338.3±7.93	429.8±10.31	565.4±14.52	700.8±18.76	810.8±20.67
LO 200	42	88.1±2.23	149.23±2.65	235.85±5.61	341.1±7.42	439.1±9.26	575.4±11.24	704.6±11.41	807.7±15.28
LO 400	42	88.5±2.07	150.54±2.17	241.5±5.94	351.3±6.27	441.7±10.32	583.1±13.51	710.8±16.81	814.6±19.98

ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.M.)

* CON (กลุ่มควบคุม), LO 100 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 มก./กก.อาหาร), LO 200 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 200 มก./กก.อาหาร), LO 400 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก.อาหาร)

จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่ม (n) = 13

ตารางที่ 4-2 แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักอวัยวะของหัวใจ ม้าม ตับ ตับอ่อน และกระเพาะบด ของไก่ในแต่ละกลุ่มการทดลอง

กลุ่มการทดลอง *	น้ำหนักอวัยวะ (% ของน้ำหนักตัว)				
	หัวใจ	ม้าม	ตับ	ตับอ่อน	กระเพาะบด
CON	0.59±0.03	0.23±0.01	2.19±0.07	0.22±0.01[a]	2.45±0.09[a]
LO 100	0.58±0.04	0.24±0.01	2.38±0.08	0.24±0.01[ab]	1.97±0.10[b]
LO 200	0.62±0.04	0.26±0.01	2.47±0.08	0.25±0.01[ab]	1.88±0.06[b]
LO 400	0.63±0.03	0.25±0.01	2.40±0.08	0.27±0.01[b]	1.92±0.06[b]

ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.M.)

ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์ (a,b) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* CON (กลุ่มควบคุม), LO 100 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 มก./กก.อาหาร), LO 200 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 200 มก./กก.อาหาร), LO 400 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก.อาหาร)

จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่ม (n) = 13

1.3 การศึกษาผลในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมัน

ผลการทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมนัยสำคัญทาสถิติขิงปริมาณ MDA ในซีรั่ม ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงฤทธิ์ในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของมันในไก่ทุกกลุ่มการทดลอง ที่อายุ 56 วัน (ตารางที่ 4-3)

ตารางที่ 4-3 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณ MDA ในซีรั่มของไก่แต่ละกลุ่มการทดลอง ที่อายุ 56 วัน

กลุ่มการทดลอง*	Serum MDA (nmol/ml)
CON	0.89±0.06
LO 100	0.87±0.08
LO 200	0.79±0.03
LO 400	0.78±0.04

ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.M.)

* CON (กลุ่มควบคุม), LO 100 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 มก./กก.อาหาร), LO 200 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 200 มก./กก.อาหาร), LO 400 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก.อาหาร) จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่ม (n) = 13

1.4 การศึกษาลักษณะจุลกายวิภาคของลำไส้

ผลการศึกษาพบว่าความสูงของวิลลัส (villous height; VH) และความลึกของคริปท์ (crypt depth; CD) ของผนังลำไส้เล็กส่วนกลาง และอัตราส่วนระหว่าง ความสูงของวิลลัส ความลึกของคริปท์ (VH:CD ratio) ระหว่างไก่ในกลุ่มควบคุม และไก่ในกลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหารทั้งสามขนาด ที่อายุ 56 วัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4-4)

ตารางที่ 4-4 แสดงค่าเฉลี่ยความสูงของวิลลัส ความลึกของคริปท์ และอัตราส่วนระหว่างความสูงของวิลลัส ความลึกของคริปท์ ของผนังลำไส้เล็กส่วนกลาง ของไก่ที่อายุ 56 วัน

กลุ่มการทดลอง*	Villous height (VH) (μm)	Crypt depth (CD) (μm)	VH:CD ratio
CON	752.89±50.15	89.82±2.22	8.36±0.38
LO 100	708.36±96.65	101.92±2.23	6.96±0.95
LO 200	909.64±44.81	104.93±9.20	8.73±0.32
LO 400	829.48±70.85	94.53±4.95	8.89±1.18

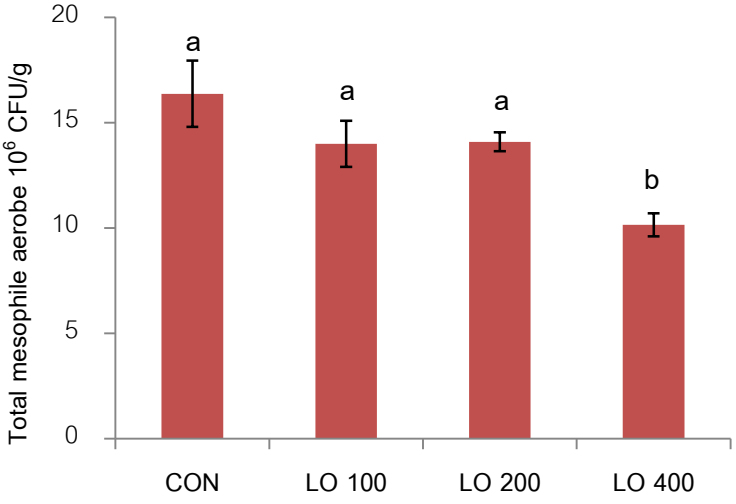
ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.M.)

* CON (กลุ่มควบคุม), LO 100 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 มก./กก.อาหาร), LO 200 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 200 มก./กก.อาหาร), LO 400 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก.อาหาร) จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่ม (n) = 3

1.5 การตรวจนับเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจน จาก contents ของลำไส้เล็ก (Total mesophile aerobe from intestinal contents)

ผลการตรวจนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนจาก content ในลำไส้เล็กของไก่ พบว่ากลุ่มควบคุม มีค่าเฉลี่ยของจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ 16.38±1.56 CFUx10^6/กรัม ส่วน ไก่ที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้ในขนาด 100, 200 และ 400 มก./กก.อาหาร มีค่าเฉลี่ยจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ 14±1.09, 14.1±0.44 และ 10.16±0.54 CFUx10^6/กรัม ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้ในขนาดสูงสุด คือ 400 มก./กก. อาหาร มีค่าเฉลี่ยจำนวน CFU ของแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนทั้งหมด น้อยกว่ากลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้ในขนาดที่ต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนไก่ในกลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้ในขนาด 100 และ 200 มก./กก.อาหาร มีค่าเฉลี่ยจำนวน CFU ของแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนทั้งหมด ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 4-1)

ภาพที่ 4-1 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจำนวน CFU ของแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนทั้งหมดจาก content ในลำไส้เล็กของไก่



ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.M.)

ตัวอักษรที่ต่างกัน (a,b) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* CON (กลุ่มควบคุม), LO 100 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 มก./กก.อาหาร), LO 200 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 200 มก./กก.อาหาร), LO 400 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก.อาหาร) จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่ม (n) = 5

1.6 การวัดระดับภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อการทำวัคซีน

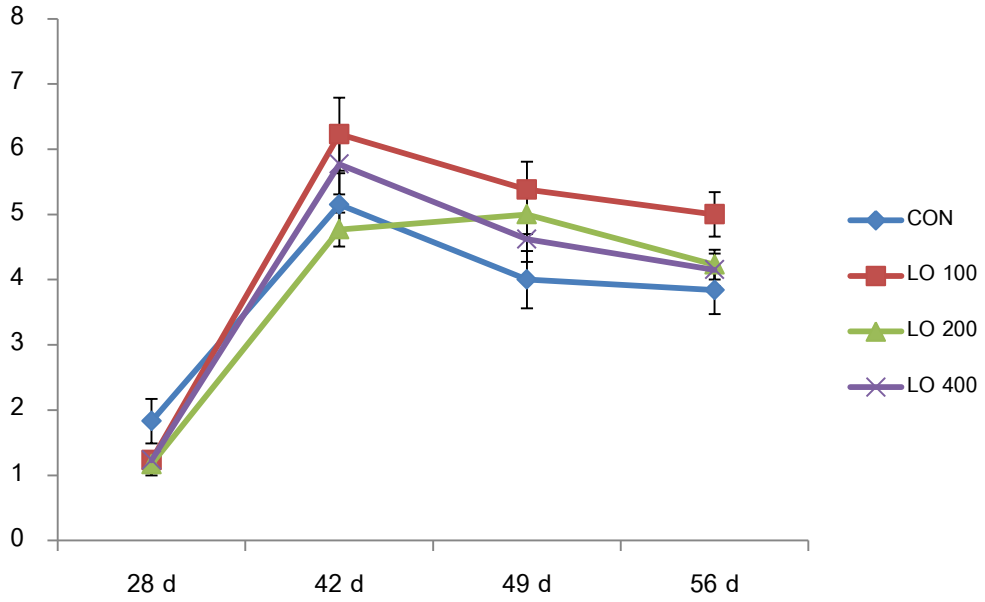
ผลการวัดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสนิวคาสเซิล (Newcastle disease virus; NDV) ก่อนการทำวัคซีนที่อายุ 28 วัน พบว่าไม่มีความแตกต่างของระดับ antibody titer ในไก่ทุกกลุ่ม หลังการทำวัคซีนที่อายุ 42 พบว่าระดับ antibody titer ในไก่ทุกกลุ่มเพิ่มสูงขึ้น จากนั้นค่อยๆลดต่ำลงในไก่ที่อายุ 49 และ 56 วัน (ตารางที่ 4-5 และ ภาพที่ 4-2) ระดับ antibody titer ที่วัดครั้งสุดท้ายจากซีรั่มไก่อายุ 56 วัน พบว่าไก่กลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีการเสริมน้ำมันตะไคร้ทั้งสามขนาดมีระดับ antibody titer สูงกว่ากลุ่มควบคุม โดยมีเฉพาะกลุ่มที่เสริมน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 มก./กก. ที่พบว่ามีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p< 0.05$)

ตารางที่ 4-5 แสดงค่าเฉลี่ยHI antibody titer ของไก่ที่อายุ 28, 42, 49 และ 56 วัน

กลุ่มการทดลอง *	HI antibody titer (log_2)			
	28 วัน	42 วัน	49 วัน	56 วัน
CON	1.83±0.34	5.15±0.48	4.0±0.44	3.38±0.37 [a]
LO 100	1.23±0.12	6.23±0.56	4.77±0.26	5.0±0.34 [b]
LO 200	1.17±0.17	5.38±0.43	5.0±0.30	4.23±0.23 [ab]
LO 400	1.23±0.12	5.77±0.46	4.62±0.35	4.15±0.25 [ab]

ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.M.)
ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์ (a,b) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
* CON (กลุ่มควบคุม), LO 100 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 มก./กก.อาหาร), LO 200 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 200 มก./กก.อาหาร), LO 400 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก.อาหาร) จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่ม (n) = 13

ภาพที่ 4-2 แสดงภาพการเปลี่ยนแปลงของการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน ไก่ที่อายุ 28, 42, 49 และ 56 วัน



CON (กลุ่มควบคุม), LO 100 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 มก./กก.อาหาร), LO 200 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 200 มก./กก.อาหาร), LO 400 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก.อาหาร)

2. **การศึกษาผลของการใช้น้ำมันตะไคร้แกงเสริมอาหารในไก่เนื้อ**

2.1 ผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต (growth performance)

ผลการชั่งน้ำหนักตัวไก่อายุ 1, 7, 14, 21 วัน ของแต่ละกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่อายุ 28 วัน ไก่ที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหารทั้งสามกลุ่มมีน้ำหนักตัวไม่แตกต่างกัน และมีน้ำหนักตัวมากกว่ากลุ่มควบคุม แต่พบว่ามีเฉพาะกลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในขนาด 100 และ 400 มก./กก. อาหาร ที่มีน้ำหนักตัวมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) น้ำหนักตัวไก่ที่อายุ 35 และ 42 วัน พบว่าไก่ในกลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหารในขนาด 100, 200 และ 400 มก./กก.อาหาร มีน้ำหนักตัวไม่แตกต่างกัน และมีน้ำหนักตัวมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 4-6)

ปริมาณอาหารที่กิน (feed intake; FI) ในแต่ละสัปดาห์ และปริมาณอาหารที่กินสะสม (cumulative FI) แสดงในตารางที่ 4-7 ไก่ในกลุ่มควบคุม และกลุ่มการทดลองที่อายุ 7, 14, 21, 28 และ 35 วัน มีปริมาณการกินอาหารไม่แตกต่างกัน ในไก่ที่อายุ 42 วัน พบว่าไก่กลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมด้วยน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก. มีปริมาณการกินอาหารที่น้อยกว่ากลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 และ 200 มก./กก. อาหาร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ปริมาณอาหารที่กินสะสมพบว่าไก่ในกลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหารทั้งสามกลุ่มมีปริมาณการกินอาหารสะสมน้อยกว่ากลุ่มควบคุม แต่มีเฉพาะกลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในขนาด 400 มก./กก.อาหาร ที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

อัตราแลกเนื้อ (feed conversion ratio; FCR) ของไก่ในแต่ละกลุ่มการทดลอง แสดงเป็นอัตราแลกเนื้อสะสมในแต่ละสัปดาห์ พบว่าที่อายุ 21, 35 และ 42 วัน ไก่ในกลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในขนาด 200 และ 400 มก./กก.อาหาร ที่มีอัตราแลกเนื้อสะสมน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 4-8)

2.2 ผลน้ำหนักอวัยวะ

น้ำหนักอวัยวะของไก่แต่ละกลุ่มการทดลองที่อายุ 42 วัน ของอวัยวะที่ศึกษาได้แก่ ตับ ตับอ่อน หัวใจ ม้าม กระเพาะบด และ เบอร์ซ่า พบว่าแต่ละกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสิถิติของน้ำหนักอวัยวะทั้งหมดที่ทำการศึกษา (ตารางที่ 4-9)

ตารางที่ 4-6 แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวไก่ของแต่ละกลุ่มการทดลอง ที่อายุ 1, 7, 14, 21, 28, 35 และ 42 วัน

กลุ่มการทดลอง *	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัว (กรัม)						
	1 วัน	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน	35 วัน	42 วัน
CON	45	148.61±2.24	421.11±6.15	687.92±9.03	1176.11±9.62 [a]	1487.64±14.01 [a]	1791.11±10.90 [a]
LO 100	45	152.22±2.06	425.14±6.04	703.14±10.76	1218.47±9.38 [b]	1529.86±13.14 [b]	1826.14±11.77 [b]
LO 200	45	147.36±1.83	418.06±7.35	696.39±11.94	1198.89±13.95 [ab]	1544.58±13.95 [b]	1851.81±13.52 [b]
LO 400	45	146.29±2.17	424.71±7.02	699.29±10.79	1223.71±9.65 [b]	1540.71±13.51 [b]	1849.00±11.37 [b]

ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.M.)

ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์ (a,b) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* CON (กลุ่มควบคุม), LO 100 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 มก./กก.อาหาร), LO 200 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 200 มก./กก.อาหาร), LO 400 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก.อาหาร)

จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่ม (n) = 36

ตารางที่ 4-7 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณอาหารที่กินของไก่ ในช่วงอายุแต่ละสัปดาห์ และปริมาณอาหารที่กินสะสม

กลุ่มการทดลอง *	ปริมาณอาหารที่กิน (กรัม/ตัว)						
	1-7 วัน	8-14 วัน	15-21 วัน	22-28 วัน	29-35 วัน	36-42 วัน	ปริมาณอาหารที่กินสะสม
CON	150.47±6.52	342.44±3.77	567.08±11.07	770.94±9.70	888.89±17.73	758.06±24.31 [a]	3477.89±19.68 [a]
LO 100	153.61±3.06	343.44±7.63	560.56±8.87	781.53±9.50	881.25±22.74	774.03±10.32 [a]	3494.31±37.85 [a]
LO 200	144.58±5.24	332.36±7.39	536.94±15.50	770.14±11.66	875.56±14.28	785.28±10.94 [a]	3444.86±17.87 [a]
LO 400	136.42±3.57	333.36±1.78	535.28±9.69	744.72±5.85	870.56±9.78	707.92±11.73 [b]	3340.25±21.58 [b]

ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.M.)

ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์ (a,b) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* CON (กลุ่มควบคุม), LO 100 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 มก./กก.อาหาร), LO 200 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 200 มก./กก.อาหาร), LO 400 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก.อาหาร)

จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่ม (n) = 6

ตารางที่ 4-8 แสดงค่าเฉลี่ยอัตราแลกเนื้อสะสมของไก่ในแต่ละสัปดาห์

กลุ่มการทดลอง *	อัตราแลกเนื้อ					
	1-7 วัน	1-14 วัน	1-21 วัน	1-28 วัน	1-35 วัน	1-42 วัน
CON	1.45±0.05	1.31±0.03	1.65±0.01 [a]	1.62±0.03	1.88±0.02 [a]	1.99±0.01 [a]
LO 100	1.43±0.03	1.31±0.02	1.61±0.02 [ab]	1.57±0.02	1.83±0.03 [ab]	1.97±0.02 [a]
LO 200	1.40±0.05	1.28±0.02	1.56±0.01 [b]	1.55±0.02	1.77±0.03 [b]	1.91±0.02 [b]
LO 400	1.39±0.03	1.27±0.02	1.57±0.03 [b]	1.53±0.03	1.77±0.02 [b]	1.87±0.02 [b]

ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.M.)

ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์ (a,b) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* CON (กลุ่มควบคุม), LO 100 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 มก./กก.อาหาร), LO 200 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 200 มก./กก.อาหาร), LO 400 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก.อาหาร)

จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่ม (n) = 6

ตารางที่ 4-9 แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักอวัยวะ ของตับ ตับอ่อน หัวใจ ม้าม กระเพาะบด และเบอร์ซ่า ของแต่ละกลุ่มการทดลอง

กลุ่มการทดลอง *	น้ำหนักอวัยวะ (% ของน้ำหนักตัว)					
	ตับ	ตับอ่อน	หัวใจ	ม้าม	กระเพาะบด	เบอร์ซ่า
CON	2.71±0.15	0.15±0.01	0.51±0.02	0.11±0.01	1.62±0.08	0.08±0.01
LO 100	3.02±0.09	0.17±0.01	0.47±0.02	0.12±0.01	1.68±0.10	0.09±0.01
LO 200	2.94±0.10	0.15±0.01	0.51±0.03	0.11±0.01	1.64±0.11	0.11±0.01
LO 400	2.86±0.11	0.16±0.01	0.50±0.02	0.11±0.01	1.43±0.12	0.09±0.01

ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.M.)

* CON (กลุ่มควบคุม), LO 100 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 มก./กก.อาหาร), LO 200 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 200 มก./กก.อาหาร), LO 400 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก.อาหาร)

จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่ม (n) =15

2.3 ผลการตรวจนับเม็ดเลือด และค่าชีวเคมีการทำงานของตับและไต

การศึกษาผลของการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหารไก่ต่อสุขภาพโดยรวม ทำโดยการตรวจวัดค่าทางโลหิตวิทยาของเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว และชีวเคมีในเลือดไก่ที่อายุ 42 วัน

2.3.1 ค่าทางโลหิตวิทยาของเม็ดเลือดแดง

ผลการตรวจค่าทางโลหิตวิทยาของเม็ดเลือดแดงประกอบด้วย จำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมด (total red blood cell; total RBC) ปริมาณฮีโมโกลบิน (hemoglobin; Hb) เม็ดเลือดแดงอัดแน่น (hematocrit; Hct), ปริมาตรของเม็ดเลือดแดงโดยเฉลี่ย (mean corpuscular volume; MCV), ปริมาณเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง (mean corpuscular hemoglobin; MCH) และความเข้มข้นเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง (mean corpuscular hemoglobin concentration; MCHC) พบว่าไก่ในทุกกลุ่มการทดลอง มีค่าโลหิตวิทยาของเม็ดเลือดแดงไม่แตกต่างกัน (ตางราง 4-10)

2.3.2 ค่าทางโลหิตวิทยาของเม็ดเลือดขาว

ผลการตรวจค่าโลหิตวิทยาของเม็ดเลือดขาว ได้แก่ จำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด (total white blood cell; total WBC) ร้อยละของเม็ดเลือดขาวชนิด heterophil, lymphocyte, Monocyte, Eosinophil และ Basophil และอัตราส่วนระหว่างเม็ดเลือดขาวชนิด heterophil ต่อ lymphocyte (H/L ratio) พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มควบคุม และกลุ่มการทดลอง โดยพบว่าทั้งสี่กลุ่มมีค่าโลหิตวิทยาของเม็ดเลือดขาวแต่ละค่าใกล้เคียงกัน ยกเว้นค่า H/L ratio ที่พบว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหารขนาด 100, 200 และ 400 มก./กก.อาหาร มีแนวโน้มของค่า H/L ratio ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4-11)

ตารางที่ 4-10 แสดงค่าเฉลี่ยของค่าทางโลหิตวิทยาของเม็ดเลือดแดงของไก่ที่อายุ 42 วัน

กลุ่มการทดลอง *	ค่าทางโลหิตวิทยาของเม็ดเลือดแดง					
	RBC ($x10^6$/ul)	hb (g/ul)	hct (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dl)
CON	2.40±0.05	11.20±0.23	29.63±0.58	121.75±1.07	46.07±0.41	37.85±0.26
LO 100	2.32±0.17	11.40±0.22	30.34±0.56	122.00±0.55	45.83±0.26	37.52±0.26
LO 200	2.57±0.04	11.75±0.20	31.12±0.52	121.08±0.71	45.65±0.27	37.74±0.22
LO 400	2.47±0.05	11.32±0.24	30.23±0.62	122.67±0.92	45.88±0.35	37.42±0.21

ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.M.)

* CON (กลุ่มควบคุม), LO 100 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 มก./กก.อาหาร), LO 200 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 200 มก./กก.อาหาร), LO 400 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก.อาหาร)

จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่ม (n) =12

ตารางที่ 4-11 แสดงค่าเฉลี่ยของค่าทางโลหิตวิทยาของเม็ดเลือดขาวของไก่ที่อายุ 42 วัน

กลุ่มการทดลอง *	ค่าทางโลหิตวิทยาของเม็ดเลือดขาว						
	WBC ($x10^3$/ul)	Heterophil ($x10^3$/ul)	Lymphocyte ($x10^3$/ul)	Monocyte ($x10^3$/ul)	Eosinophil ($x10^3$/ul)	Basophil ($x10^3$/ul)	H/L ratio
CON	19.13±2.07	6.37±0.61	11.79±1.65	0.59±0.13	0.021±0.010	0.36±0.09	0.60±0.05
LO 100	20.18±1.79	6.56±0.63	12.33±1.32	0.89±0.18	0.021±0.006	0.37±0.13	0.57±0.06
LO 200	17.14±0.84	5.49±0.54	10.61±0.55	0.61±0.16	0.022±0.007	0.35±0.11	0.53±0.06
LO 400	18.49±2.35	5.88±1.06	11.51±1.28	0.70±0.19	0.015±0.004	0.37±0.14	0.50±0.06

ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.M.)

* CON (กลุ่มควบคุม), LO 100 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 มก./กก.อาหาร), LO 200 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 200 มก./กก.อาหาร), LO 400 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก.อาหาร)

จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่ม (n) =12

2.3.3 ค่าชีวเคมีที่แสดงการทำงานของตับและไต

ผลการศึกษาค่าชีวเคมีที่แสดงการทำงานของตับและไต ในเลือด พบว่าไก่ที่ได้รับอาหารเสริมน้ำมันตะไคร้แกงทั้งสามขนาด มีค่า SGPT (serum glutamic pyruvic transaminase), SGOT (serum glutamic oxaloacetic transaminase) และ creatinine ในซีรั่มไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4-12)

ตารางที่ 4-12 แสดงค่าเฉลี่ยของค่าชีวเคมีที่แสดงการทำงานของตับและไต ในเลือดของไก่ที่อายุ 42 วัน

กลุ่มการทดลอง *	SGPT (U/l)	SGOT (U/l)	Creatinine (mg/dl)
CON	4.16±0.11	227.58±5.31	0.31±0.03
LO 100	3.91±0.19	235.67±5.77	0.27±0.02
LO 200	3.58±0.15	231.58±7.27	0.24±0.02
LO 400	3.75±0.18	229.17±12.41	0.25±0.02

ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.M.)

* CON (กลุ่มควบคุม), LO 100 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 มก./กก.อาหาร), LO 200 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 200 มก./กก.อาหาร), LO 400 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก.อาหาร)

จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่ม (n) = 12

2.4 ผลการศึกษาผลในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมัน

การศึกษาผลการใช้น้ำมันตะไคร้แกงเสริมในอาหารไก่ ต่อการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันในซีรั่ม ทำการศึกษาโดยการวัดผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาดังกล่าว (MDA) ในซีรั่มไก่ที่อายุ 42 วัน โดยเปรียบเทียบกับค่าจากกราฟมาตรฐานของ MDA ผลการทดลองพบว่าไก่ที่ได้รับอาหารที่เสริมน้ำมันตะไคร้แกงในขนาด 100, 200 และ 400 มก./กก. อาหาร มีค่าเฉลี่ยปริมาณ MDA ในซีรั่ม ต่ำกว่าไก่ในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 4-13)

ตารางที่ 4-13 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณ MDA ในซีรั่มของไก่แต่ละกลุ่มการทดลอง

กลุ่มการทดลอง *	Serum MDA (nmol/ml)
CON	1.33±0.18 [a]
LO 100	1.10±0.11 [b]
LO 200	0.98±0.06 [b]
LO 400	0.95±0.04 [b]

ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.M.)
ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์ (a,b) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
* CON (กลุ่มควบคุม), LO 100 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 มก./กก.อาหาร), LO 200 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 200 มก./กก.อาหาร), LO 400 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก.อาหาร)
จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่ม (n) = 18

2.5 ผลการวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์จากตับอ่อน

2.5.1 ผลการวิเคราะห์ α-amylase activity

ผลการศึกษาการทำงานของเอนไซม์ α-amylase จากตับอ่อน พบว่ากลุ่มที่ได้รับน้ำมันตะไคร้แกงเสริมในอาหารทั้งสามขนาดมีสมรรถนะของ α-amylase มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และพบว่ากลุ่มที่ได้รับน้ำมันตะไคร้แกงเสริมในอาหารในขนาด 100 มก./กก. อาหาร มีปริมาณสมรรถนะของ α-amylase ต่ำกว่า กลุ่มที่ได้รับน้ำมันตะไคร้แกงเสริมในอาหารในขนาด 200 และ 400 มก./กก. อาหาร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 4-14)

ตารางที่ 4-14 แสดงค่าเฉลี่ยสมรรถนะของ α-amylase จากตัวอย่างตับอ่อนของไก่แต่ละกลุ่มการทดลอง ที่อายุ 42 วัน

กลุ่มการทดลอง *	α-amylase activity (U/mg protein)
CON	0.09±0.007 [a]
LO 100	0.23±0.016 [b]
LO 200	0.37±0.017 [c]
LO 400	0.40±0.034 [c]

ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.M.)

ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์ (a, b, c) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* CON (กลุ่มควบคุม), LO 100 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 มก./กก.อาหาร), LO 200 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 200 มก./กก.อาหาร), LO 400 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก.อาหาร)

จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่ม (n) = 12

2.5.2 **ผลการวิเคราะห์** Trypsin activity

ผลการศึกษาการทำงานของเอนไซม์ trypsin จากตับอ่อน พบว่ากลุ่มที่ได้รับน้ำมันตะไคร้แกงเสริมในอาหารทั้งสามขนาดมีสมรรถนะของเอนไซม์ trypsin ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4-15)

ตารางที่ 4-15 แสดงค่าเฉลี่ยสมรรถนะของเอนไซม์ trypsin จากตัวอย่างตับอ่อนของไก่แต่ละกลุ่มการทดลอง ที่อายุ 42 วัน

กลุ่มการทดลอง*	Trypsin activity (U/mg protein)
CON	0.79±0.07
LO 100	0.80±0.07
LO 200	0.80±0.03
LO 400	0.89±0.08

ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.M.)

* CON (กลุ่มควบคุม), LO 100 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 มก./กก.อาหาร), LO 200 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 200 มก./กก.อาหาร), LO 400 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก.อาหาร)

จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่ม (n) = 12

2.6 ผลการศึกษาลักษณะจุลกายวิภาคของลำไส้

ผลของน้ำมันตะไคร้แกงต่อลักษณะจุลกายวิภาคของผนังลำไส้เล็กส่วนกลาง ของไก่ที่อายุ 42 วัน พบว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหารทั้งสามขนาด และกลุ่มควบคุมมีความสูงของวิลลัส ความลึกของคริปท์ และอัตราส่วนระหว่าง ความสูงของวิลลัส ความลึกของคริปท์ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4-16)

ตารางที่ 4-16 แสดงค่าเฉลี่ยความสูงของวิลลัส ความลึกของคริปท์ และอัตราส่วนระหว่าง ความสูงของวิลลัส ความลึกของคริปท์ ของผนังลำไส้เล็กส่วนกลาง ของไก่ที่อายุ 42 วัน

กลุ่มการทดลอง *	Villous height (VH) (μm)	Crypt depth (CD) (μm)	VH:CD ratio
CON	706.13±22.95	76.66±0.98	9.22±0.33
LO 100	727.44±21.27	77.32±2.79	9.43±0.25
LO 200	710.77±23.13	72.11±2.68	9.88±0.25
LO 400	733.57±21.93	76.06±1.99	9.68±0.30

ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.M.)

* CON (กลุ่มควบคุม), LO 100 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 มก./กก.อาหาร), LO 200 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 200 มก./กก.อาหาร), LO 400 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก.อาหาร)

จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่ม (n) = 6

2.7 ผลการตรวจนับเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ Lactobacilli ในลำไส้

ผลการนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียจาก contents ในลำไส้เล็กของไก่ที่อายุ 42 พบว่าไก่ที่ได้รับอาหารเสริมด้วยน้ำมันตะไคร้แกงทั้งสามขนาดมีจำนวนโคโลนี (colony forming unit; CFU) ของเชื้อ *E. coli* น้อยกว่ากลุ่มควบคุม โดยกลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในขนาดสูงสุด คือ 400 มก./กก. อาหาร มีค่าเฉลี่ยจำนวน CFU ของเชื้อ *E. coli* น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ผลต่อจำนวน CFU ของเชื้อ Lactobacilli ในลำไส้เล็กพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหาร อัตราส่วนระหว่างจำนวน CFU ของเชื้อ Lactobacilli ต่อ *E. coli* ในกลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในขนาด 400 มก./กก. อาหาร มากกว่ากลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมด้วยน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 และ 200 มก./กก. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 4-17)

ตารางที่ 4-17 แสดงค่าเฉลี่ยจำนวน CFU ของเชื้อ *E. coli*, Lactobacilli และ อัตราส่วนระหว่างจำนวน CFU ของเชื้อ Lactobacilli ต่อ *E. coli* จากไส้เล็กของไก่ที่อายุ 42 วัน

กลุ่มการทดลอง *	*E. coli* (CFU x10^6/g)	Lactobacilli (CFU x10^7/g)	Lactobacilli*: E. coli* Ratio
CON	19.38±1.94 ^{a}	6.96±1.82	3.69±0.84 ^{a}
LO 100	16.64±1.92 ^{ab}	7.22±2.15	4.45±1.81 ^{a}
LO 200	15.58±0.85 ^{ab}	7.43±1.26	4.88±1.01 ^{a}
LO 400	11.90±1.30 ^{b}	10.91±1.20	9.85±1.81 ^{b}

ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.M.)
ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์ (a,b) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)
* CON (กลุ่มควบคุม), LO 100 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 มก./กก.อาหาร), LO 200 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 200 มก./กก.อาหาร), LO 400 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก.อาหาร)
จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่ม (n) = 6

2.8 ผลการวัดระดับภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อการทำวัคซีน

2.8.1 ผลของน้ำมันตะไคร้แกงเสริมอาหารไก่ ต่อการตอบสนองภูมิคุ้มกันจากการทำวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล (Newcastle disease; ND)

ผล HI antibody titer ซึ่งเป็นการวัดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ NDV จากการสุ่มตัวอย่างไก่จำนวน 24 ตัวจากไก่ทั้งหมด ที่อายุ 1 วัน ก่อนการทำวัคซีนป้องกันโรค ND พบว่า มีระดับ antibody titer เฉลี่ยเท่ากับ 9.50±0.26 ซึ่งเป็นภูมิคุ้มกันที่ได้รับจากแม่ (maternally derived antibodies) และมีค่าสูง ระดับ antibody titer หลังการทำวัคซีนในไก่อายุ 7, 14, 28 และ 42 วัน พบว่าระดับ antibody titer ลดลงเรื่อยๆ โดยไม่พบการเกิด sero-conversion และไก่ที่ได้รับอาหารเสริมด้วยน้ำมันตะไคร้แกงทั้งสามขนาด มีระดับ antibody titer เฉลี่ยไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นที่อายุ 42 วัน พบว่าไก่ที่ได้รับอาหารเสริมด้วยน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก. มีระดับ antibody titer เฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับน้ำมันตะไคร้แกงขนาดอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 4-18)

ตารางที่ 4-18 แสดงค่าเฉลี่ยHI antibody titer ของไก่ที่อายุ 7, 14, 28 และ 42 วัน

กลุ่มการทดลอง *	HI antibody titer (log_2)			
	7 วัน	14 วัน	28 วัน	42 วัน
CON	6.72±0.96	4.39±0.98	2.22±0.88	1.33±0.77[a]
LO 100	7.11±0.83	4.56±0.86	2.61±0.92	1.39±1.2[a]
LO 200	7.44±1.25	4.72±0.89	2.94±1.55	1.39±0.5[a]
LO 400	7.44±1.2	5.17±0.86	2.67±0.49	2.44±1.79[b]

ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.M.)

ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์ (a,b) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* CON (กลุ่มควบคุม), LO 100 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 มก./กก.อาหาร), LO 200 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 200 มก./กก.อาหาร), LO 400 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก.อาหาร)

จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่ม (n) = 18

2.8.2 ผลของน้ำมันตะไคร้แกงเสริมอาหารไก่ ต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจาก การทำวัคซีนป้องกันโรคเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ (Infectious bursal disease; IBD)

การวัดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ IBDV (Infectious bursal disease virus) โดยการใช้ ELISA (IBD antibody ELISA kit , Synbiotics®) จากการสุ่มตัวอย่างไก่จำนวน 24 ตัวจากไก่ทั้งหมด ที่อายุ 1 วัน เพื่อดูระดับภูมิคุ้มกันโรค IBD ที่ได้รับจากแม่ (maternally derived antibodies) พบว่ามีระดับ antibody titer เฉลี่ยเท่ากับ 2649.75±208.10 การตรวจวัดระดับ IBD antibody titer ครั้งนี้พบว่าการทำวัคซีน IBD ในไก่อายุ 18 วัน แล้วตรวจวัดระดับ antibody titer ที่อายุ 35 วัน พบว่ามีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่ค่อนข้างต่ำ ทำให้การรายงานผลเป็น ระดับ antibody titer นั้นมีค่า 0 หลายค่าในแต่ละกลุ่มการทดลอง ซึ่งไม่สามารถเปรียบเทียบทางสถิติได้ จึงใช้ค่า OD (optical density) มาพิจารณาแทน โดยแสดงผลเป็นค่า corrected OD ของ test sample คือค่า OD ของ test sample หักลบด้วยค่า OD ของตัวควบคุมเชิงลบ (negative control) โดยค่า corrected OD test sample จากไก่อายุ 35 วัน โดยพบว่าไก่ในกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมด้วยน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก.มีค่า corrected OD ซึ่งแสดงถึงปริมาณ antibody ต่อเชื้อ IBDV สูงกว่าไก่ในกลุ่มอื่นๆ โดยสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วยน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 และ 200 มก./กก. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4-19)

ตารางที่ 4-19 แสดงค่า corrected OD เฉลี่ย จากการการตรวจวัดระดับ IBD antibody titer ด้วยวิธี ELISA ของตัวอย่างซีรั่มไก่ที่อายุ 35 วัน

กลุ่มการทดลอง*	Corrected OD ของ test sample
	35 วัน
CON	0.14±0.05 [ab]
LO 100	0.11±0.03 [a]
LO 200	0.06±0.02 [a]
LO 400	0.22±0.05 [b]

ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.M.)

ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์ (a,b) แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

* CON (กลุ่มควบคุม), LO 100 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 มก./กก.อาหาร), LO 200 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 200 มก./กก.อาหาร), LO 400 (กลุ่มน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก.อาหาร)

จำนวนตัวอย่างต่อกลุ่ม (n) = 18

บทที่ 5

อภิปรายและสรุปผลงานวิจัย

อภิปรายผล

ในปัจจุบันมีความตื่นตัวในการใช้สารจากธรรมชาติ เพื่อเป็นทางเลือกทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะผสมอาหารในการผลิตสัตว์ น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากพืชเป็นสิ่งหนึ่งที่ได้รับความสนใจในการศึกษา เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยส่วนใหญ่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลชีพ นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ที่หลากหลาย ได้แก่ ต้านอนุมูลอิสระ (Botsoglou et al., 2002) ลดไขมันในเลือดและเนื้อสัตว์ (Craig, 1999) จากรายงานการศึกษาที่ผ่านมาไม่นานนี้แสดงให้เห็นว่ามันหอมระเหยจากพืชหลายชนิดมีประสิทธิภาพที่ดีในการผลิตไก่ พืชส่วนใหญ่เป็นเครื่องเทศ เช่น ไทม์ สะระแหน่ อบเชย (Hoffman-Pennesi and Wu, 2010; Ciftci et al., 2010; Emami et al., 2012) และ ออริกาโน (Malayoglu et al., 2010) จากการศึกษาที่ทดลองในหลอดทดลองของ Wald (2004) ที่เปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลชีพของน้ำมันหอมระเหยจากพืชหลายชนิด แสดงให้เห็นว่าน้ำมันตะไคร้แกงมีประสิทธิภาพต้านเชื้อจุลชีพใกล้เคียงกับน้ำมันหอมระเหยจากต่างประเทศ เช่น ออริกาโน ได้มีการศึกษาพัฒนาน้ำมันหอมระเหยจากออริกาโน และอบเชย เป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์และนิยมใช้กันแพร่หลายในปัจจุบัน จึงเป็นที่มาของความสนใจในการศึกษาวิจัยการใช้น้ำมันตะไคร้แกงเพื่อเป็นวัตถุเติมในอาหารไก่ในครั้งนี้

น้ำมันตะไคร้แกงประกอบด้วยสารประกอบทางเคมีหลายชนิด โดยสารหลักคือ citral พบร้อยละ 65-85 น้ำมันตะไคร้แกงมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลชีพทั้งเชื้อรา และแบคทีเรีย (Onawunmi, 1987) นอกจากนี้ยังมีรายงานถึงคุณสมบัติของน้ำมันตะไคร้แกงที่น่าสนใจ เช่น ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ (Carlini et al., 1986) ลดระดับน้ำตาล และไขมันในเลือด (Adeneye and Agbaje, 2007) สาร citral ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันตะไคร้แกงนี้จัดเป็นสารกลุ่ม monoterpenes ซึ่งเป็นสารกลุ่มเดียวกันกับ carvacrol และ thymol ที่เป็นองค์ประกอบหลักจากน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากออริกาโน แต่มีความแตกต่างกันที่หมู่ฟังก์ชั่น ของโครงสร้างทางเคมี (Bakkali et al., 2008) ส่วนองค์ประกอบอื่นๆ มีสารบางตัวที่พบได้ทั้งในน้ำมันตะไคร้แกงและออริกาโน เช่น linalool, myrcene และ limonene (Roofchaee et al., 2011) ในการศึกษาครั้งนี้ใช้น้ำมันตะไคร้แกงที่ได้จากแหล่งผลิตทางการค้า และทำการประเมินคุณภาพของน้ำมันตะไคร้แกงก่อนจะนำมาใช้โดยการส่งตรวจวัดปริมาณของสารสำคัญ ด้วยวิธี Gas chromatography ซึ่งผลการวิเคราะห์พบว่าน้ำมันตะไคร้แกงที่ใช้มีองค์ประกอบหลักคือ citral

รองลงมาคือ myrcene และ geraniol ตามลำดับ และองค์ประกอบอื่นๆ ได้แก่ 6-methyl-5-hepten-2-one, cis-ocimene, geranyl acetate และ linalool น้ำมันตะไคร้แกงที่ใช้ในการทดลองที่ 1และ 2 มีร้อยละขององค์ประกอบหลักที่ใกล้เคียงกัน โดยพบว่าน้ำมันตะไคร้แกงที่ใช้ในการทดลองที่ 1 มีปริมาณ citral รวม ร้อยละ 80.27 (α-citral ร้อยละ 45.62 และ β-citral ร้อยละ 34.65) ส่วนน้ำมันตะไคร้แกงที่ใช้ในการทดลองที่ 2 มีปริมาณ citral รวม ร้อยละ 79.03 (α-citral ร้อยละ 45.10 และ β-citral ร้อยละ 33.93) ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ดี เนื่องจากน้ำมันตะไคร้แกงที่มีคุณภาพดีควรมี citral ไม่ต่ำกว่า ร้อยละ 75 (Guenther, 1950)

1. **การศึกษาเบื้องต้นของการใช้น้ำมันตะไคร้แกงเสริมอาหารในไก่ไข่**

1.1 ผลต่อน้ำหนักตัว (Body weight)

การศึกษาผลต่อการเจริญเติบโตในการทดลองนี้ เป็นการศึกษาเบื้องต้นที่ทำในไก่ไข่ มีเพียงการชั่งน้ำหนักตัวสัตว์ในแต่ละสัปดาห์ เนื่องจากมีวัตถุประสงค์เพื่อหาขนาดของน้ำมันตะไคร้แกงที่เหมาะสม และยังเป็นการคัดกรองเบื้องต้นว่าการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหารจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของไก่หรือไม่ ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของน้ำหนักตัวไก่ไข่ในกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมด้วยน้ำมันตะไคร้แกง เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันหอมระเหยอื่นๆที่มีการศึกษาในทำนองเดียวกันของ Bozkurt และคณะ (2012) ที่เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของไก่ไข่สองสายพันธุ์ที่ได้รับอาหารเสริมด้วยผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหยผสมที่มี carvacrol, thymol, 1:8-cineole, p-cymene และ limonene เป็นองค์ประกอบหลัก และอาหารที่เสริมด้วยยาปฏิชีวนะ avilamycin ผลพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของน้ำหนักตัวไก่ไข่ ระหว่างกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมด้วยน้ำมันหอมระเหยผสม และกลุ่มยาปฏิชีวนะ ทั้งที่อายุ 8 และ 16 สัปดาห์ เช่นกัน นอกจากนี้ผลการศึกษาในไก่เนื้อที่พบว่าการเสริมอาหารด้วยน้ำมันหอมระเหยจากออริกาโน ในขนาด 50 และ 100 มก./กก.อาหาร ไม่มีผลในการเพิ่มน้ำหนักตัว และไม่มีผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต (Botsoglou et al., 2002)

จากการศึกษาที่ผ่านมาในสภาวะการเลี้ยงดูของสัตว์สุขภาพดีตามปกติ สมรรถนะการเจริญเติบโตเห็นได้ไม่ชัดเจนนัก เนื่องจากสัตว์มีการเจริญเติบโตได้เต็มที่อยู่แล้ว อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาเบื้องต้นนี้ พบว่าน้ำมันตะไคร้แกงไม่มีผลเสียต่อการเจริญเติบโตของไก่ไข่ อีกทั้งยังพบว่ามีแนวโน้มของน้ำหนักตัวที่มากกว่าในไก่กลุ่มที่ได้รับน้ำมันตะไคร้แกงที่เสริมในอาหารเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม จึงมีความเป็นไปได้ว่าน้ำมันตะไคร้แกงอาจมีผลในการเพิ่มการเจริญเติบโต แต่การศึกษานี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นซึ่งใช้สัตว์ทดลองจำนวนน้อย และศึกษาในไก่ไข่

ซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโตต่ำ อาจเป็นปัจจัยที่ทำให้ไม่สามารถเห็นผลต่อการเจริญเติบโตได้อย่างชัดเจน ด้วยเหตุนี้จึงเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาต่อไป ซึ่งการศึกษาถึงการเพิ่มการเจริญเติบโตจะเห็นได้ชัดเจนกว่าถ้าทำการศึกษาในไก่เนื้อ และควรวัดเป็นสมรรถนะการเจริญเติบโต ซึ่งนำปริมาณการกินอาหารมาพิจารณาร่วมด้วย

1.2 น้ำหนักอวัยวะ

การใช้พืช สารสกัดจากพืช และน้ำมันหอมระเหยเป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์ ส่วนใหญ่พบว่าไม่มีผลต่อน้ำหนักอวัยวะ เช่นการศึกษาของ Malayoglu และคณะ (2010) พบว่าไก่เนื้อที่ได้รับการเสริมอาหารด้วยน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากออริกาโนซึ่งมี thymol และ carvacrol เป็นส่วนประกอบหลัก มีน้ำหนักตับ ม้าม ตับอ่อน เบอร์ซ่า และลำไส้ ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม และอีกหลายการศึกษาที่พบว่าการเสริมอาหารด้วยผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหยผสม ไม่มีผลต่อน้ำหนักอวัยวะภายใน เช่น ตับ ตับอ่อน กระเพาะแท้ กระเพาะบด และลำไส้เล็ก (Jamroz et al. 2005; Cubuk et., 2006; Jang et al., 2007) อย่างไรก็ตามมีบางการศึกษาที่พบผลต่อน้ำหนักอวัยวะ เช่น Denli และคณะ (2004) พบว่าการเสริมน้ำมันหอมระเหยจาก black seed มีผลในการเพิ่มน้ำหนักลำไส้ในนกกระทา และการเสริมอาหารด้วยใบโรสแมรี่ป่นมีผลต่อน้ำหนักของกระเพาะบด โดยพบว่ามีน้ำหนักต่ำกว่ากลุ่มควบคุม (Ghazalah and Ali, 2008)

จากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหารมีผลต่อน้ำหนักกระเพาะบด และตับอ่อน ไก่กลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงมีน้ำหนักกระเพาะบดที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ คล้ายคลึงกับผลการศึกษาในไก่เนื้อที่ได้รับการเสริมด้วยใบโรสแมรี่ป่น 2% ในอาหาร (Ghazalah and Ali, 2008) เนื่องจากกระเพาะบดเป็นอวัยวะในทางเดินอาหารของไก่ที่ประกอบไปด้วยมัดกล้ามเนื้อที่แข็งแรง มีหน้าที่ในการบด และผสมคลุกเคล้าอาหารเข้ากับน้ำย่อยที่มาจากต่อมน้ำลาย และกระเพาะแท้ การที่กระเพาะบดมีน้ำหนักน้อย หรือมีขนาดเล็กลงนี้อาจเกิดจากมีการบดย่อยอาหารน้อยลง จึงมีการเจริญเติบโตของกล้ามเนื้อลดลงไปด้วย ซึ่งอาจมีปัจจัยมาจากปริมาณการกินอาหารที่น้อยกว่า มีผลให้การทำงานและการเจริญของกระเพาะบดต่ำกว่า อย่างไรก็ตามไม่ได้ตรวจวัดปริมาณอาหารที่กินในการศึกษาครั้งนี้ สำหรับตับอ่อนพบว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้ในขนาดสูง มีน้ำหนักของตับอ่อนที่มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งตับอ่อนเป็นอวัยวะที่สำคัญในการผลิตเอนไซม์ในระบบย่อยอาหาร ทำให้คาดการณ์ว่าน้ำมันตะไคร้แกงอาจมีผลในการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ช่วยย่อยอาหารที่สร้างขึ้นในตับอ่อน ทำให้มีการตรวจวัดเอนไซม์ในการทดลองที่ 2 ด้วย

1.3 การศึกษาผลในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมัน

ในการศึกษานี้พบว่าน้ำมันตะไคร้แกงไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันในซีรั่ม ซึ่งการไม่เห็นผลดังกล่าวนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณของน้ำมันตะไคร้แกงที่ใช้ในการศึกษาไม่เพียงพอที่จะทำให้เห็นผลในการต้านอนุมูลอิสระอย่างชัดเจน หรืออาจเนื่องจากการเลี้ยงในสภาวะปกติที่ไม่มีการเหนี่ยวนำ ซึ่งคล้ายคลึงกับการศึกษาของ Lee และคณะ (2003) ที่ได้แสดงความคิดเห็นไว้ว่า การเลี้ยงสัตว์ในภาวะปกติจะเห็นผลที่ชัดเจนของสารสกัดจากพืชในการต้านอนุมูลอิสระ หรือยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชั่นในร่างกายสัตว์ได้ยาก อาจต้องการภาวะที่มีการเหนี่ยวนำให้เกิดความเครียดหรือปฏิกิริยาออกซิเดชั่นจำนวนมากกว่าปกติ เช่นเหนี่ยวนำให้เกิดความเครียดจากความร้อน และการเลี้ยงที่หนาแน่น เป็นต้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาผลของเสริมสมุนไพรจีนสองชนิดได้แก่ *Ligustrum lucidum* และ *Schisandra chinensis* ในอาหารไก่ไข่ที่เหนี่ยวนำให้เกิดความเครียดจากการเลี้ยงภายใต้ภาวะอุณหภูมิสูง พบว่ามีผลในการลดปริมาณการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันทั้งในซีรั่ม ไข่แดง และเนื้อเยื่ออวัยวะต่างๆได้แก่ หัวใจ ตับ และไต (Ma et al., 2007)

1.4 การศึกษาลักษณะจุลกายวิภาคของลำไส้

ลักษณะของผนังลำไส้เล็กมีความสำคัญต่อการดูดซึมอาหารในไก่ ลำไส้เล็กที่มีความสูงของวิลลัสมากกว่า บ่งชี้ถึงพื้นที่ในการดูดซึมที่มากกว่า และอาจมีผลในการเพิ่มการดูดซึมสารอาหารได้มากขึ้น (Jamroz et al., 2006) ในขณะที่คริปท์ เป็นส่วนที่ทำหน้าที่ในการเพิ่มจำนวนเซลล์ขึ้นไปทดแทนเซลล์บริเวณวิลลัส ความลึกของคริปท์ที่มากขึ้นแสดงถึงความต้องการในการเพิ่มจำนวนเซลล์ทดแทนมากขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากการเสียหายของเซลล์ที่วิลลัส จากปัจจัยต่างๆ เช่น การอักเสบ การติดเชื้อปรสิต เชื้อแบคทีเรีย และ ถูกทำลายโดยสารพิษจากเชื้อแบคทีเรียก่อโรค เป็นต้น (Markovic et al., 2009)

ในปัจจุบันมีรายงานถึงผลของวัตถุเติมในอาหารทางเลือกใหม่ เช่น prebiotic, probiotic และ phytobiotic ว่ามีผลในเชิงบวกต่อลักษณะของผนังลำไส้เล็ก (Sayafi et al., 2011; Gunal et al., 2006) สำหรับข้อมูลการศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะของผนังลำไส้เล็กนั้น มีรายงานไว้โดย Jamroz และคณะ (2006) ซึ่งพบว่าไก่เนื้อที่ได้รับอาหารที่เสริมด้วยน้ำมันหอมระเหยผสม ที่มีส่วนประกอบของ carvacrol และ cinnamaldehyde ตลอดจน capsicum oleoresin ที่ได้จากพริก มีผลเพิ่มความสูง villus ของลำไส้ส่วน jejunum ทั้งนี้กลไกการทำงานยังไม่ทราบแน่ชัด

ผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหารไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของผนังลำไส้ส่วน jejunum ในไก่ไข่ ซึ่งให้ผลคล้ายคลึงกับการศึกษาที่ใช้น้ำมันหอมระเหยจากพืชชนิดอื่นๆผสมอาหารในไก่เนื้อ ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ (Emami et al., 2012) และน้ำมันหอมระเหยผสมที่ประกอบด้วย ออริกาโน และอบเชย (Garcia et al., 2007) ถึงแม้ว่าผลการศึกษาในครั้งนี้จะพบว่าน้ำมันตะไคร้แกงไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงในเชิงบวกของผนังลำไส้ส่วนเจจูนัม แต่การที่พบว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แสดงให้เห็นว่าน้ำมันตะไคร้แกงในขนาดที่ใช้ในการทดลองไม่มีความเป็นพิษที่ทำให้เกิดการระคายเคือง หรือความเสียหายของเซลล์เยื่อบุลำไส้

1.5 การตรวจนับเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจน (Total mesophile aerobe)

การต้านเชื้อจุลชีพเป็นคุณสมบัติหลักอย่างหนึ่ง ที่คาดหวังจากการใช้น้ำมันหอมระเหยผสมอาหารสัตว์ เนื่องจากการเพิ่มจำนวนที่มากเกินไปของเชื้อจุลชีพในลำไส้เล็กจะไปแย่งการใช้สารอาหารและพลังงาน เป็นผลให้ลดสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่ และยังมีผลในการเพิ่มอุบัติการณ์ในการเกิดโรคอีกด้วย (Engberg et al., 2000)

ในการศึกษาเบื้องต้นนี้ศึกษาผลของน้ำมันตะไคร้แกงต่อจำนวนเชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่ใช้ออกซิเจนในลำไส้เล็ก (เช่น Coliform, *Escherichia coli*, *Enterococcus* และ *Staphylococcus*) จากผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าไก่ที่ได้รับอาหารเสริมน้ำมันตะไคร้แกงมีจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนทั้งหมดในลำไส้เล็กลดลงแสดงว่าน้ำมันตะไคร้แกงมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียในลำไส้สอดคล้องกับฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียหลายชนิดของน้ำมันตะไคร้แกงที่มีการศึกษาในจานเพาะเลี้ยงเชื้อ ซึ่งได้รายงานว่า citral เป็นสารหลักในการออกฤทธิ์ (Onawunmi et al., 1984; Naik et al., 2010; Bassole et al., 2011) พบว่าขนาดของน้ำมันตะไคร้แกงที่ผสมในอาหารไก่มีผลลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนทั้งหมดในลำไส้เล็ก โดยที่น้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 และ 200 มก./กก. มีจำนวนเชื้อที่ใกล้เคียงกัน ในขณะที่น้ำมันตะไคร้แกงขนาดสูง 400 มก./กก. สามารถลดจำนวนเชื้อลงอย่างเห็นได้ชัดเจน แสดงให้เห็นว่าฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันตะไคร้แกงสูงขึ้นตามขนาดความเข้มข้นที่ใช้ และสอดคล้องกับการศึกษานอกร่างกายที่ศึกษาในจานเพาะเลี้ยงเชื้อพบว่าฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันตะไคร้แกงจะเพิ่มสูงขึ้นตามความเข้มข้น (Naik et al., 2010)

กลไกการออกฤทธิ์ของน้ำมันตะไคร้แกงในการต้านเชื้อแบคทีเรียยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด มีการศึกษาฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลชีพของน้ำมันตะไคร้แกงต่อเชื้อ *E. coli* จากรายงานที่ผ่านมาพบว่าน้ำมันตะไคร้แกงสามารถผ่านเยื้อหุ้มเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย ทำให้เซลล์มีรูปร่างผิดปกติ

และทำให้เกิดการตายของเซลล์แบคทีเรียในที่สุด (Ogunlana et al., 1987) นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำมันตะไคร้แกงมีผลที่เกี่ยวข้องกับการรบกวนเมตาบอลิสมทั้งที่ผนังเซลล์ และไซโตพลาสซึม ของเชื้อ *Staphylococcus aureus* (Takaisi-Kikuni et al., 1996)

อย่างไรก็ตามกลไกการออกฤทธิ์ของน้ำมันตะไคร้แกงในการต้านเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดอาจแตกต่างกัน ซึ่งยังคงต้องได้รับการศึกษาเชิงลึกต่อไป นอกจากนี้ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงการใช้น้ำมันตะไคร้แกงผสมอาหารที่มีผลกระทบต่อประชากรของเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในทางเดินอาหารด้วย

1.6 การวัดระดับภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อการทำวัคซีน

การทำงานของระบบภูมิคุ้มกันมีความสำคัญในการป้องกันโรคในสัตว์ ดังนั้นการพัฒนาและปรับปรุงการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของสัตว์จึงเป็นเป้าหมายหนึ่งของการใช้วัตถุเติมในอาหาร โดยพบว่ามีวัตถุเติมในอาหารสัตว์หลายชนิดที่มีผลในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เช่น probiotic และ prebiotic ดังการศึกษาของ Zakeri and Kashefi (2011) ที่พบว่าไก่ที่ได้รับอาหารเสริมด้วย Mannanoligosacharides (MOS) ซึ่งเป็น prebiotic และ Protexin ซึ่งเป็น probiotic มีระดับแอนติบอดี ที่ตอบสนองต่อการทำวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่การศึกษาที่ใช้น้ำมันหอมระเหยผสมในอาหารไก่เนื้อ เช่นน้ำมันหอมระเหยจากสระแหน่ และ ออริกาโน มีรายงานว่าไม่มีผลในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันอย่างมีนัยสำคัญ (Emami et al., 2012; Malayoglu et al., 2010)

การศึกษาผลการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากการทำวัคซีนในการศึกษานี้มีการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจวัดระดับ antibody titer ต่อเชื้อ NDV ในซีรั่มก่อนการทำวัคซีน ที่อายุ 28 วัน ซึ่งเป็นระดับ antibody titer ที่ได้รับจากแม่ (maternal derived antibody; mda) โดยพบว่ามีระดับต่ำและไม่แตกต่างกันในแต่ละกลุ่มการทดลอง ระดับแอนติบอดีที่ลดลงต่ำนี้แสดงถึงช่วงเวลาที่เหมาะสมในการทำวัคซีน หลังการทำวัคซีนสองสัปดาห์ (วันที่ 42) พบว่าระดับ antibody titer ต่อเชื้อ NDV ในซีรั่ม เพิ่มสูงขึ้น (sero-conversion) ซึ่งเป็นการตอบสนองต่อการทำวัคซีน ผลพบว่าหลังการทำวัคซีนที่อายุ 42, 49 และ 56 ไก่ในกลุ่มที่มีการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหารทั้งสามขนาด มีระดับ antibody titer ที่สูงกว่ากลุ่มควบคุม แสดงว่าน้ำมันตะไคร้แกงน่าจะมีผลในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในการเพิ่มระดับภูมิคุ้มกันที่มาจากการทำวัคซีน

ผลของน้ำมันตะไคร้แกงที่เสริมในอาหารต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันนี้อาจเป็นผลทางตรงหรือทางอ้อมของน้ำมันตะไคร้แกงก็เป็นได้ ผลทางตรงอาจมาจากฤทธิ์ในการปรับเปลี่ยนการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน (immunomodulatory) ซึ่งมีรายงานว่าน้ำมันตะไคร้แกง และ citral

สามารถกระตุ้น และยับยั้งการสร้าง cytokine ที่เกี่ยวข้อง ในเซลล์เพาะเลี้ยง macrophage โดยขึ้นกับความเข้มข้นของน้ำมันตะไคร้แกง การศึกษาพบว่าสาร citral ที่ความเข้มข้นต่ำสามารถกระตุ้นการผลิต IL-1β ในขณะที่ความเข้มข้นสูง มีฤทธิ์ยับยั้ง ส่วนน้ำมันตะไคร้แกงที่ความเข้มข้นต่ำสามารถกระตุ้นทั้ง IL-1β และ IL-6 (Bachiega and Sforcin, 2011) ซึ่ง IL-1β มีความสำคัญในการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะต่อเชื้อจุลชีพ การบาดเจ็บ และความเครียด และ IL-6 เป็น cytokine ที่มีบทบาทในการควบคุมการเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลง และการเคลื่อนย้ายของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันในการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน การสร้างเม็ดเลือด และการอักเสบ อย่างไรก็ตามการศึกษาถึงผลของน้ำมันตะไคร้แกงต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันมีค่อนข้างจำกัด ยังต้องได้รับการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปในอนาคต ส่วนผลทางอ้อมอาจเกี่ยวข้องกับการที่สัตว์มีสุขภาพโดยรวมดี มีความเครียดต่ำ และมีการใช้อาหารได้เต็มที่ ทำให้การตอบสนองภูมิคุ้มกันของร่างกายดีตามมา นอกจากนี้ผลทางอ้อมอาจมาจากคุณสมบัติอื่น เช่น การต้านเชื้อจุลชีพ และการต้านอนุมูลอิสระ Brisbin และคณะ (2008) ได้รายงานไว้ว่าฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลชีพของน้ำมันหอมระเหย ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของประชากรเชื้อแบคทีเรียในทางเดินอาหาร มีผลต่อการปรับเปลี่ยนการทำงานของการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันด้วย สำหรับผลจากการต้านอนุมูลอิสระมีรายงานว่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยบางชนิดมีบทบาทต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน โดยมีผลในการปกป้องเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (oxidative damage) และส่งเสริมการเพิ่มจำนวน และการทำงานของเซลล์ในระบบภูมิค้มกันอีกด้วย (Ma et al., 2005)

สำหรับขนาดของน้ำมันตะไคร้แกงต่อผลการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อการทำวัคซีน พบว่าไก่ที่อายุ 56 วัน มีระดับ antibody titer ที่ไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่เสริมน้ำมันตะไคร้แกงทั้งสามขนาด อย่างไรก็ตามพบว่ากลุ่มที่เสริมน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 มก./กก.ที่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่าน้ำมันตะไคร้แกงที่ขนาดต่ำนี้เพียงพอในการให้ผลในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งคล้ายคลึงกับการศึกษาของ Gurbuz และคณะ (2010) ที่ทำการเสริมสารสกัดจากสมุนไพรอิชิเนเซียในอาหารไก่ไข่ รายงานว่าฤทธิ์ของสารสกัดจากสมุนไพรต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันไม่ได้เพิ่มขึ้นตามขนาดของสารสกัดที่สูงขึ้นเสมอไป เนื่องจากพบว่า ไก่กลุ่มที่ได้รับการเสริมสารสกัด ในขนาด 2.5 มก./กก.กลับมีระดับแอนติบอดิต่อเชื้อ ND สูงกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับการเสริมสารสกัด ขนาด 5 มก./กก.อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามยังไม่อาจสรุปได้ว่าขนาดของน้ำมันตะไคร้ที่สูงขึ้นหรือต่ำกว่านี้จะมีผลใน

การกระตุ้นภูมิคุ้มกันเพิ่มมากขึ้น หรือลดลง เนื่องจากการศึกษานี้เป็นการศึกษาเบื้องต้น และเป็นการศึกษาเพียงครั้งเดียว ยังคงต้องการการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปในอนาค

2. การศึกษาผลของการใช้น้ำมันตะไคร้แกงเสริมอาหารในไก่เนื้อ

2.1 ผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต (growth performance)

การศึกษาผลของการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตในไก่เนื้อ ทำการศึกษาในไก่เนื้อพันธุ์ Cobb 500 ที่มีอัตราการเจริญเติบโตสูง ซึ่งการเจริญเติบโตสูงสุดตามพันธุ์ของไก่พันธุ์ Cobb 500 เพศเมีย ที่อายุ 42 วัน มีค่าน้ำหนักตัวเฉลี่ยเท่ากับ 2419.8 กรัม (Cobb 500, technical information service) จากผลการเจริญเติบโตในครั้งนี้พบว่าไก่ทุกกลุ่มการทดลองมีการเจริญเติบโตที่ต่ำกว่ามาตรฐาน ซึ่งอาจเนื่องมาจากสองปัจจัยที่สำคัญ ปัจจัยแรกคือสภาพอากาศในช่วงที่เลี้ยงซึ่งเป็นช่วงเดือนเมษายน ถึงเดือนพฤษภาคม ที่อากาศร้อนมีผลให้ปริมาณการกินอาหารของไก่ลดลง ปัจจัยที่สองคือลักษณะของอาหารที่ใช้เป็นอาหารผงตลอดการทดลองซึ่งจะได้ปริมาณการกินที่น้อยกว่าการให้อาหารเม็ด ซึ่งเป็นสิ่งที่ต้องพัฒนาการใช้น้ำมันตะไคร้แกงที่จะผสมอาหารในรูปอาหารเม็ดต่อไป อย่างไรก็ตามไก่ทุกกลุ่มอยู่ในสถานที่เลี้ยงและสภาพอากาศเดียวกัน และลักษณะอาหารที่ได้แบบเดียวกัน ดังนั้นปัจจัยดังกล่าวไม่มีผลกระทบในการเปรียบเทียบผลการทดลอง

ผลการศึกษาพบว่าไก่ที่ได้รับอาหารเสริมน้ำมันตะไคร้แกงทั้งสามกลุ่ม มีน้ำหนักตัวไก่มากกว่าเมื่อเทียบกับไก่กลุ่มควบคุม ตั้งแต่อายุ 28 วันเป็นต้นไป โดยพบว่าขนาดของน้ำมันตะไคร้แกงที่เพิ่มขึ้น ไม่มีผลต่อการเพิ่มน้ำหนัก

ปริมาณการกินอาหารของไก่กลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหารไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตลอดการทดลอง ยกเว้นในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลองที่พบว่า ไก่กลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในขนาด 400 มก./กก.มีปริมาณการกินที่ต่ำกว่ากลุ่มอื่น ซึ่งพบว่าปริมาณการกินอาหารของไก่กลุ่มนี้มีแนวโน้มที่ต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ มาตั้งแต่อายุ 28 วัน ส่งผลให้ปริมาณการกินสะสมต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆไปด้วย ผลในการลดปริมาณการกินนี้ขัดแย้งกับข้อมูลการศึกษาในอดีตที่มีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ผสมในอาหารส่วนใหญ่เพิ่มความน่ากินของอาหาร (palatability) ส่งผลให้มีปริมาณการกินอาหารเพิ่มมากขึ้น (Franz et al., 2010) อย่างไรก็ตามการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงขนาดสูงอาจมีผลในเรื่องของกลิ่นที่รบกวนการกินอาหารของไก่ ทำให้กินได้น้อยลง

อัตราแลกเนื้อของไก่ พบว่าไก่กลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในขนาด 200 และ 400 มก./กก. มีอัตราแลกเนื้อสะสมที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริมน้ำมันตะไคร้แกงขนาด

100 มก./กก.ในอาหาร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยผลในการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่ในกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมด้วยน้ำมันตะไคร้แกงนี้ สอดคล้องกับผลของน้ำมันตะไคร้แกงต่อสมรรถนะการทำงานของเอนไซม์ช่วยย่อยอาหาร และผลการลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียในลำไส้เล็ก

จากผลการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่าการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหารมีผลในการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตในไก่เนื้อ สอดคล้องกับการศึกษาที่ใช้ใบตะไคร้ป่นเสริมอาหารในไก่ เนื้อด้วยอัตราส่วน 1% ที่พบว่ามีผลเร่งการเจริญเติบโตของไก่ และมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับกลุ่มที่ใช้ยาปฏิชีวนะ Terramycin เป็นวัตถุเติมในอาหาร (Mmereole, 2010) เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาที่ใช้น้ำมันหอมระเหยชนิดอื่น พบว่ามีหลายการศึกษาที่พบผลดีต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต เช่น การเสริมอาหารไก่เนื้อด้วยผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหย (Orego-Stim®) ที่มี carvacrol เป็นองค์ประกอบหลัก ในขนาด 300 มก./กก. ผลพบว่าไก่ที่ได้รับการเสริมน้ำมันหอมระเหยในอาหารมีอัตราแลกเนื้อที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Calislar et al., 2009) การเสริมอาหารด้วยผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหยผสมที่ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหย 6 ชนิด (oregano oil, laurel leaf oil, sage leaf oil, myrtle leaf oil, fennel seeds oil และ citrus peel oil) ขนาด 48 และ 72 มก./กก.ในไก่เนื้อ พบว่ามีอัตราแลกเนื้อต่ำกว่ากลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับยาปฏิชีวนะ avilamycin เสริมในอาหาร (Alcicek et al., 2003) และไก่เนื้อที่ได้รับอาหารเสริมด้วยน้ำมันหอมระเหยผสม จาก sage ไทม์ และโรสแมรี่ ขนาด 5,000 มก./กก.พบว่ามีอัตราการเจริญเติบโต (น้ำหนักตัวที่เพิ่ม/วัน) สูงกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Hernandez et al., 2004). อย่างไรก็ตามอีกหลายๆการศึกษากลับพบว่าการเสริมน้ำมันหอมระเหยในอาหารไก่เนื้อ ไม่มีผลในต่อการเจริญเติบโต เช่นการเสริมอาหารด้วยน้ำมันหอมระเหยจากออริกาโน ในขนาด 50 และ 100 มก./กก.อาหาร (Botsoglou et al., 2002) และการเสริมอาหารด้วยผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหยผสมที่มี thymol เป็นองค์ประกอบหลัก ในขนาด 25 และ 50 มก./กก. อาหาร (Jang et al., 2007) ความแปรปรวนของผลของน้ำมันหอมระเหย ต่อการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตของสัตว์นั้น อาจเนื่องมาจากความแตกต่างของอาหารพื้นฐานที่ใช้ในแต่ละการศึกษา ปริมาณการกินอาหาร มาตรฐานสุขศาสตร์ และสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกัน

2.2 น้ำหนักอวัยวะ

ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าน้ำมันตะไคร้แกงไม่มีผลต่อน้ำหนักอวัยวะในไก่เนื้อ ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกันกับผลการศึกษาการใช้น้ำมันหอมระเหยชนิดอื่นๆ เช่นออริกาโน ในไก่เนื้อ (Malayoglu et al., 2010; Hernandez et al., 2004) แต่ผลนี้แตกต่างจากการศึกษาเบื้องต้นในไก่ไข่ที่พบว่าการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหารมีผลต่อน้ำหนักอวัยวะได้แก่ ตับอ่อน และกระเพาะบด ผลที่

แตกต่างกันของไก่สองชนิดนี้อาจเกิดจากการตอบสนองที่แตกต่างกันของไก่ไข่ และไก่เนื้อ และระยะเวลาที่ไก่ได้รับน้ำมันตะไคร้แกงต่างกัน อย่างไรก็ตามผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าน้ำหนักกระเพาะบดมีแนวโน้มลดลงในไก่กลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกง โดยเฉพาะน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก. ซึ่งพบว่ามีปริมาณการกินอาหารที่ต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ สอดคล้องกับข้อสันนิษฐานในเรื่องของน้ำหนักของกระเพาะบด กับปริมาณการกิน ที่กล่าวไว้ในการศึกษาเบื้องต้น

2.3 ผลการตรวจนับเม็ดเลือด และค่าชีวเคมีแสดงการทำงานของตับและไต

การตรวจนับเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว และค่าชีวเคมีที่แสดงการทำงานของตับและไต เพื่อเป็นการตรวจสอบสุขภาพโดยรวมของไก่ เนื่องจากไก่ได้รับอาหารที่เสริมด้วยน้ำมันตะไคร้แกงติดต่อกันเป็นเวลานานตลอดช่วงการเลี้ยง 6 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่า ค่าโลหิตวิทยาของเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว และค่าชีวเคมีที่แสดงการทำงานของตับและไต ของไก่กลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมน้ำมันตะไคร้แกงทั้งสามขนาด อยู่ในเกณฑ์ปกติ และไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงถึงสุขภาพโดยรวมที่เป็นปกติดี ผลที่ได้คล้ายคลึงกับผลการศึกษาในการใช้น้ำมันหอมระเหยจาก savory ที่มี carvacrol เป็นสารประกอบหลัก พบว่าเมื่อเสริมในอาหารไก่เนื้อแล้วไม่มีผลเสียต่อการทำงานของตับและไต โดยพิจารณาจากค่าเอนไซม์ตับและค่า urea, uric acid และ creatinine (Khosravinia et al., 2013)

ผลการศึกษานี้จึงเป็นอีกข้อมูลหนึ่งที่ยืนยันความปลอดภัยในการใช้น้ำมันตะไคร้แกง เป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์ เนื่องจากน้ำมันหอมระเหยได้มาจากพืชสมุนไพรกลุ่มเครื่องเทศ รวมทั้งตะไคร้แกง จัดว่ามีความปลอดภัยสูงและได้รับการกำหนดไว้ว่าเป็นพืชในกลุ่ม GRAS (General Recognized As Safe) นอกจากนี้ยังมีการศึกษายืนยันว่าไม่มีความเป็นพิษทั้งในมนุษย์ และสัตว์อีกด้วย (Leite et al., 1986; Adeneye and Agbaje, 2007)

ถึงแม้ว่าผลการศึกษาค่าโลหิตวิทยาจะไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ก็เป็นประโยชน์ในการช่วยสนับสนุนข้อมูลเกี่ยวกับผลอื่นๆของน้ำมันตะไคร้แกงที่สนใจ โดยเฉพาะผลการนับจำนวนเม็ดเลือดขาว ซึ่งพบว่าจำนวนเม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte ซึ่งแสดงถึงการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายมีแนวโน้มที่สูงในไก่กลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหาร เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในขณะไก่กลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหาร มีแนวโน้มจำนวนเม็ดเลือดขาวชนิด heterophil ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งเม็ดเลือดขาวชนิด heterophil จะพบมากในภาวะอักเสบ และเมื่อคำนวณอัตราส่วนของจำนวน heterophil ต่อ lymphocyte (H/L ratio) ซึ่งเป็นที่ยอมรับกันว่าเป็นค่าที่บ่งชี้ภาวะความเครียดในร่างกายสัตว์

(stress indicator) (Al-Murrani et al., 1997) พบว่า ไก่กลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหารมีแนวโน้ม H/L ratio ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอีกด้วย

2.4 ผลการศึกษาผลในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมัน

จากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าไก่ที่ได้รับอาหารเสริมด้วยน้ำมันตะไคร้แกงทั้งสามขนาดมีปริมาณ MDA เฉลี่ยในซีรั่มต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับการศึกษาเบื้องต้นในไก่ไข่ที่พบว่าน้ำมันตะไคร้แกงมีแนวโน้มลดปริมาณ MDA ในซีรั่มซึ่งแสดงถึงการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันที่ลดลง ถึงแม้ว่า MDA ในไก่ไข่ทุกกลุ่มแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และผลที่ได้ให้ผลเช่นเดียวกันกับการศึกษาที่มีการใช้น้ำมันหอมระเหยเสริมในอาหารไก่เนื้อ เช่น น้ำมันหอมระเหยจากออริกาโน และ อบเชย พบว่ามีผลในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันในเลือด (Ciftci et al., 2010; Botsoglou et al., 2002) โดยเหตุที่อนุมูลอิสระ ที่เกิดขึ้นภายในร่างกาย มีผลต่อสุขภาพโดยรวม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในภาวะที่ไม่ปกติ กระบวนการต้านอนุมูลอิสระในร่างกายสัตว์ที่มีอยู่ จัดว่าเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญโดยมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันโรค ตลอดจนสมรรถนะการเจริญเติบโตของสัตว์

ส่วนใหญ่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพร และเครื่องเทศมาจากสารประกอบที่มีฟีนอลเป็นองค์ประกอบ (phenolic compound) โดยมีคุณสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่น ทำหน้าที่เป็นตัวกำจัดอนุมูลอิสระ โดยให้อิเล็คตรอน หรือให้ไฮโดรเจน เพื่อช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น ทำให้อนุมูลอิสระกลายเป็นสารที่มีความเสถียร (Rice-Evans et al., 1997) น้ำมันตะไคร้แกงมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระเช่นกัน แต่ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ขึ้นอยู่กับวิธีการสกัด และส่วนของพืชที่ใช้ จากการศึกษาของ Cheel และคณะ (2005) พบว่าสารสกัดด้วยเมทานอลของตะไคร้แกงมีสารประกอบฟลาโวนอยด์ชนิด C-glycosylflavone ได้แก่ orientin และ isoorientin ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอล ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ตรวจพบได้ในหลอดทดลอง และมีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมัน ของเซลล์เม็ดเลือดแดง ในขณะที่น้ำมันตะไคร้แกง ที่สกัดโดยการกลั่นด้วยไอน้ำ จะมีองค์ประกอบหลักเป็น citral ซึ่งเป็นสารกลุ่ม terpenes มีรายงานก่อนหน้านี้ว่าสารกลุ่ม terpenes สามารถกระตุ้นสมรรถนะของเอนไซม์ glutathione S-transferase (GST) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการกำจัดสารพิษของเซลล์ (cellular detoxification) และยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันที่ผิวหนังหนูทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิสระด้วยสารก่อมะเร็ง (Nakamura et al., 2003) นอกจากนี้ในน้ำมันตะไคร้แกงมีสารประกอบฟีนอลเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วยเช่นกัน ผลการศึกษาของ Mirghani และ Parveen (2012) พบว่าน้ำมันตะไคร้แกงที่สกัดจากส่วนของลำต้น มีปริมาณสารประกอบฟีนอล

ทั้งหมด สูงกว่าน้ำมันตะไคร้แกงที่สกัดจากใบ นอกจากนี้ปริมาณของสารประกอบฟีนอลมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันตะไคร้แกง

โดยเหตุที่น้ำมันตะไคร้แกงมีสารประกอบที่หลากหลายและมีกลไกต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน แต่ในการศึกษานี้ตรวจวัดเพียงการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันในเลือด ดังนั้นควรมีการศึกษาถึงพารามิเตอร์อื่นๆ เช่น ตรวจวัดเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย และการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันในอวัยวะต่างๆ รวมถึงในเนื้อไก่ ซึ่งไม่เพียงแต่มีความสำคัญในการส่งเสริมสุขภาพสัตว์โดยตรงแล้ว ยังเกี่ยวข้องกับความคงตัวของผลิตภัณฑ์เนื้อไก่อีกด้วย

2.5 **ผลการวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์จากตับอ่อน** (pancreatic enzyme)

มีหลายงานวิจัยที่พบว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยเป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์นั้นมีผลในการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ช่วยย่อยในทางเดินอาหาร (Jang et al., 2007; Malayoglu et al., 2010) ซึ่งเป็นคุณประโยชน์หนึ่งที่น่าสนใจศึกษา และจากการศึกษาเบื้องต้นที่พบว่าน้ำมันตะไคร้แกงมีผลต่อขนาดของตับอ่อน ที่ใหญ่ขึ้นในไก่ไข่ ซึ่งเป็นไปได้ว่าอาจเกี่ยวข้องกับการทำงานหรือผลิตเอนไซม์ช่วยย่อยที่มากขึ้น โดยที่ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักตับอ่อนกับการทำงานของเอนไซม์จากตับอ่อน มีรายงานโดย Gabriel (2008) ที่พบว่าการให้อาหารที่มีการเสริม whole wheat มีผลเพิ่มน้ำหนักของตับอ่อน ซึ่งสอดคล้องกับการพบว่ามี amylase activity เพิ่มมากขึ้น

ในการศึกษานี้สนใจศึกษาเอนไซม์จากตับอ่อนสองชนิดได้แก่ α-amylase และ trypsin เนื่องจากมีหน้าที่ในการย่อยอาหารประเภทแป้ง และโปรตีน ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์ α-amylase พบว่าไก่ที่ได้รับอาหารเสริมด้วยน้ำมันตะไคร้แกงมีสมรรถนะของเอนไซม์ α-amylase มากขึ้นตามขนาดของน้ำมันตะไคร้แกงที่สูงขึ้น ในขณะที่ผลการวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์ trypsin พบว่ามีแนวโน้มการทำงานเพิ่มขึ้นตามขนาดของน้ำมันตะไคร้แกงที่เสริมในอาหารเช่นเดียวกัน แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลที่พบว่าสมรรถนะที่เพิ่มมากขึ้นของเอนไซม์ช่วยย่อย ส่งผลดีต่อประสิทธิภาพการใช้อาหาร และการเจริญเติบโต ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตที่พบ ถึงแม้ว่าผลจากการศึกษาครั้งนี้ไม่พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของน้ำหนักตับอ่อนของไก่ในแต่ละกลุ่มการทดลอง ผลของน้ำมันหอมระเหยต่อการช่วยย่อย เป็นผลที่คาดหวังจากน้ำมันหอมระเหยนอกเหนือจากฤทธิ์ต้านจุลชีพ ผลที่ได้มีความคล้ายกับการศึกษาของ Jang และคณะ (2007) ที่พบว่าไก่เนื้อที่ได้รับอาหารเสริมด้วยผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหยผสมที่มี thymol เป็นส่วนประกอบผสมในอาหาร

ไก่เนื้อในขนาด 50 มก./กก.มีการทำงานของเอนไซม์ α-amylase และ trypsin จากตับอ่อนเพิ่มมากขึ้น โดยที่ไม่พบว่ามีน้ำหนักตับอ่อนเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วยเช่นกัน

ยังไม่ทราบแน่ชัดถึงกลไกการทำงานในการกระตุ้นเอนไซม์ช่วยย่อยของน้ำมันตะไคร้แกงและน้ำมันหอมระเหย และยังมีข้อมูลการศึกษาที่จำกัด จึงควรมีการศึกษาต่อไปในอนาคต นอกจากนี้การศึกษาผลของน้ำมันตะไคร้แกงต่อการทำงานของระบบย่อยอาหารยังควรศึกษาเพิ่มเติมถึงความสามารถในการย่อยอาหาร (digestibility) และผลของน้ำมันตะไคร้แกงต่อสมรรถนะของเอนไซม์ช่วยย่อยจากแหล่งอื่น เช่น ต่อมน้ำลาย กระเพาะแท้ และลำไส้เล็กส่วนต้น

2.6 ผลการศึกษาลักษณะจุลกายวิภาคของลำไส้

จากสมมติฐานการทดลองที่คาดว่าน้ำมันตะไคร้แกงอาจมีผลในการปรับปรุงลักษณะของผนังลำไส้ให้เพิ่มความสามารถในการดูดซึมสารอาหารได้มากขึ้น ซึ่งอาจส่งผลต่อการเจริญเติบโตที่เพิ่มมากขึ้น ผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหารในไก่เนื้อ ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของผนังลำไส้ส่วน jejunum ซึ่งให้ผลคล้ายคลึงกับการศึกษาที่ใช้น้ำมันหอมระเหยจากพืชชนิดอื่นๆผสมอาหารในไก่เนื้อ ได้แก่ น้ำมันหอมระเหยจากใบสะระแหน่ (Emami et al., 2012) และน้ำมันหอมระเหยผสมที่ประกอบด้วย ออริกาโน และ อบเชย (Garcia et al., 2007) และสอดคล้องกับการศึกษาเบื้องต้นในไก่ไข่ที่พบว่าน้ำมันตะไคร้แกงไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะของผนังลำไส้ส่วน jejunum เช่นเดียวกัน แสดงให้เห็นว่าการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้นจากการได้รับอาหารเสริมด้วยน้ำมันตะไคร้แกงนี้ ไม่ได้มาจากการเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซึมของผนังลำไส้เล็กส่วน jejunum อย่างไรก็ตามผลการตรวจที่พบว่าลักษณะจุลกายวิภาคของลำไส้ของไก่กลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม บ่งชี้ว่าน้ำมันตะไคร้แกงในขนาดที่ใช้ในการทดลองไม่มีความเป็นพิษที่ทำให้เกิดการระคายเคือง หรือความเสียหายของเซลล์เยื่อบุลำไส้ ของไก่เนื้อ เช่นเดียวกันกับที่พบในไก่ไข่ โดยเหตุที่การศึกษาครั้งนี้ให้ความสนใจศึกษาลำไส้เล็กส่วน jejunum เพียงส่วนเดียว ดังนั้นการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหารอาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของผนังลำไส้เล็กในส่วนอื่นๆ

2.7 ผลการตรวจนับเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ lactobacilli ในลำไส้

จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหารมีผลลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนทั้งหมดในลำไส้เล็ก เพื่อความชัดเจนว่าเชื้อที่มีผลกระทบเป็นเชื้อแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์หรือไม่ การศึกษาที่ 2 ในไก่เนื้อจึงศึกษาถึงจำนวนเชื้อ *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่พบได้ในทางเดินอาหาร โดยทั่วไปไม่ก่อโรค แต่ก็มีผลในการแย่งสารอาหารสัตว์ และ

แข่งขันกับแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ทำให้ลดจำนวนแบคทีเรียที่มีประโยชน์ลง นอกจากนี้ยังมีรายงานที่พบว่า เชื้อ *E. coli* ที่อยู่ในทางเดินอาหารก็เป็นแหล่งรังโรคของเชื้อ *E. coli* ที่ก่อโรคทั้งทางเดินอาหาร และทางเดินหายใจ ดังนั้นการที่เชื้อ *E. coli* ลดจำนวนลงจึงเป็นเรื่องที่ดีต่อสุขภาพทางเดินอาหารสัตว์ (Engberg et al., 2000) ส่วนเชื้อในกลุ่ม lactobacilli มีเชื้อหลายชนิด (สายพันธุ์) ที่เป็นเชื้อเป็นประโยชน์ ได้แก่ *Lactobacillus spp.* และ *Bifidobacterium spp.* ซึ่งเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์นี้จะช่วยในการย่อยสารอาหารบางชนิดในลำไส้เล็ก และยังปกป้องทางเดินอาหารจากการรุกรานของเชื้อก่อโรคโดยการยึดพื้นที่การเกาะติดผนังลำไส้ ดังนั้นการมีเชื้อกลุ่มนี้มากจึงเป็นเรื่องดี (Nazef, 2008)

จากการศึกษานี้พบว่าการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงทั้งสามขนาด มีการลดจำนวนลงของเชื้อ *E. coli* ในขณะที่ไม่ส่งผลในการลดจำนวนเชื้อในกลุ่ม lactobacilli ทั้งยังมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้น ซึ่งส่งผลให้มีอัตราส่วนของเชื้อ ในกลุ่ม lactobacilli ต่อ เชื้อ *E. coli* ที่มากกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งคล้ายคลึงกับการศึกษาที่ใช้น้ำมันหอมระเหยจากออริกาโนผสมในอาหารให้แก่ไก่เนื้อพบว่าน้ำมันหอมระเหยในขนาด 300 และ 600 มก./กก. มีจำนวนของเชื้อ *E. coli* จากลำไส้ ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Roofchaee et al., 2011) และการศึกษาที่ใช้ผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหยผสมที่มี thymol เป็นส่วนประกอบผสมในอาหารไก่เนื้อ พบว่าไก่ที่ได้รับการเสริมน้ำมันหอมระเหย มีจำนวนเชื้อ *E. coli* ในลำไส้ลดลง แต่ไม่มีผลต่อจำนวนเชื้อในกลุ่ม lactobacilli ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์ (Jang et al., 2007)

ผลในการลดจำนวนเชื้อ *E. coli* ในการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาเบื้องต้นที่พบว่าน้ำมันตะไคร้แกงมีผลในการลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนในลำไส้ และจากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก.มีผลลดจำนวนเชื้อ *E. coli* ได้ดีกว่า น้ำมันตะไคร้แกงขนาด 200 และ 100 มก./กก.ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันตะไคร้แกงสูงขึ้นตามขนาดความเข้มข้นที่ใช้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่พบว่าฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ของน้ำมันตะไคร้แกงจะเพิ่มสูงขึ้นตามความเข้มข้น (Naik et al., 2010) ซึ่งประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่สูงขึ้นตามความเข้มข้นนี้น่าจะเป็นประโยชน์ในการจัดการกับเชื้อก่อโรค หรือเชื้อดื้อยา ซึ่งน่าสนใจในการศึกษาต่อไปในอนาคต

2.8 ผลการวัดระดับภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อการทำวัคซีน

การศึกษาผลของการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหาร ต่อการตอบสนองภูมิคุ้มกันจากการทำวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลในไก่เนื้อ พบว่าไก่เนื้อที่อายุ 1 วัน มีระดับภูมิคุ้มกันที่ได้รับจากแม่ (maternally derived antibodies; mda) สูง ซึ่งรบกวนการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันเมื่อให้วัคซีนที่

อายุ 1 วัน และที่อายุ 7 วัน โดยไม่พบการเพิ่มขึ้นของระดับ antibody titer หลังการให้วัคซีน (sero-conversion) ถึงแม้ว่าโปรแกรมวัคซีนที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้จะใกล้เคียงกับโปรแกรมมาตรฐานที่แนะนำ (Sasipreeyajan et al., 2007) แต่ผลการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อการทำวัคซีนนั้นแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ ระดับ mda ของลูกไก่ ชนิดและความแรงของวัคซีนที่ใช้ วิธีการให้วัคซีน ตลอดจนสายพันธุ์ของไก่ (Jalil et al., 2010) อย่างไรก็ตามจากการศึกษาที่ผ่านมามีรายงานว่าไก่แม่พันธุ์ที่ได้รับวัคซีนป้องกันโรค ND สามารถส่งผ่านภูมิคุ้มกันมาในลูกไก่ จึงพบว่าไก่ที่อายุ 1 วัน มีระดับ antibody titer ต่อเชื้อ NDV ซึ่งระดับ antibody titer จะลดลงทีละครึ่ง (half life) ในช่วงเวลาทุก 5 วัน และ และต่ำจนใกล้ศูนย์ ที่อายุ 25 วัน (Balla, 1986; Saeed et al., 1988) ทั้งนี้จากการศึกษาพบว่าไก่ที่อายุ 1 วันมีระดับ mda ที่สูงมาก และการลดลงของภูมิคุ้มกันเป็นไปอย่างช้าๆ ซึ่งเป็นไปได้ว่ามาจากการที่มีการตอบสนองภูมิคุ้มกันต่อการทำวัคซีนบางส่วน ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบระดับ antibody titer ต่อเชื้อ NDV พบว่าไก่ในกลุ่มที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหาร มีระดับ antibody titer สูงกว่ากลุ่มควบคุมตลอดช่วงที่ตรวจวัด โดยเฉพาะที่อายุ 42 วัน ไก่ที่ได้รับการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหารขนาด 400 มก./กก. มีระดับ antibody titer เฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งแสดงว่าน้ำมันตะไคร้แกงอาจมีผลในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในไก่เนื้อเช่นเดียวกับในไก่ไข่

นอกจากนี้มีการศึกษาผลของน้ำมันตะไคร้แกงที่เสริมอาหารต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจาก การทำวัคซีนป้องกันโรคเบอร์ซ่าอักเสบติดต่อ ในไก่เนื้อ ซึ่งให้วัคซีนที่อายุ 18 วัน ผลการศึกษาพบว่าค่า corrected OD ที่แสดงถึงปริมาณ antibody ที่ตอบสนองจากการให้วัคซีนในไก่อายุ 35 วัน มีค่าค่อนข้างต่ำ ซึ่งอาจมาจากหลายปัจจัยได้แก่ ความแรงของวัคซีนที่ใช้ และการรบกวนจาก mda ทั้งนี้หากมีการตรวจวัดระดับ antibody titer ที่อายุ 42 วันเพิ่มเติม น่าจะเห็นผลการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่ชัดเจนขึ้น เมื่อเปรียบเทียบระดับ antibody ที่อายุ 35 พบว่าไก่ในกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมด้วยน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก. มีปริมาณ antibody ต่อเชื้อ IBDV สูงกว่าไก่ในกลุ่มอื่นๆ อย่างไรก็ตามกลับพบว่ากลุ่มที่ได้รับน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 และ 200 มก./กก. มีระดับ antibody titer ที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งอาจเกิดจากน้ำมันตะไคร้แกงในขนาดดังกล่าว มีผลในการลดการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งไม่สอดคล้องกับผลการศึกษาในไก่ไข่ และผลของน้ำมันตะไคร้แกงต่อระดับ antibody titer ต่อเชื้อ NDV ในไก่เนื้อ ที่พบว่าน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 100 และ 200 มก./กก. ไม่ได้มีผลลดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน และผลการศึกษาฤทธิ์ของน้ำมันตะไคร้แกง ที่มีการศึกษาในเซลล์เพาะเลี้ยง macrophage โดย Bachiega and Sforcin (2011) รายงานว่า น้ำมันตะไคร้แกงมีฤทธิ์ในการปรับเปลี่ยนการทำงาน

ของระบบภูมิคุ้มกัน (immunomodulatory) โดยน้ำมันตะไคร้แกงที่ความเข้มข้นต่ำ สามารถกระตุ้นการสร้าง cytokine (IL-1β และ IL-6) ในขณะที่ความเข้มข้นสูงมีฤทธิ์ยับยั้ง

ด้วยเหตุนี้ในการศึกษาครั้งนี้ยังไม่สามารถสรุปผลของน้ำมันตะไคร้แกงต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากการทำวัคซีนในไก่เนื้อได้ เนื่องจากผลต่อการตอบสนองภูมิคุ้มกันจากการทำวัคซีน ND พบว่าไก่มีระดับภูมิคุ้มกันที่ได้รับจากแม่สูงอยู่ก่อนแล้ว ในขณะที่การศึกษาผลต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากการทำวัคซีน IBD พบผลที่ไม่ชัดเจน และยังไม่สามารถอธิบายได้ ซึ่งจำเป็นต้องได้รับการศึกษาเพิ่มเติมในอนาคต อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาพบว่าไก่เนื้อที่ได้รับการเสริมอาหารด้วยน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก. มีระดับ antibody titer ต่อเชื้อ NDV และ IBDV สูงกว่าไก่ในกลุ่มอื่นๆ ซึ่งอาจบ่งชี้ว่าน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก. มีผลกระตุ้นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน ซึ่งอาจมาจากฤทธิ์การทำงานของน้ำมันตะไคร้แกง ดังที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น หรือมาจากผลอื่นๆซึ่งพบว่า ไก่เนื้อที่ได้รับอาหารเสริมน้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 มก./กก. นี้มีผลในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันในเลือด และการลดจำนวนเชื้อ *E. coli* ในลำไส้อย่างเด่นชัด

ถึงแม้ว่าการศึกษาเพื่อประเมินการตอบสนองภูมิคุ้มกันในครั้งนี้ทำโดยวิธีมาตรฐานทั่วไป แต่โปรแกรมวัคซีนที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ อาจยังไม่เหมาะสมต่อการประเมินผล จึงควรทดลองเพิ่มเติมในไก่ที่มีโปรแกรมวัคซีนที่แตกต่างกัน หรือทดสอบในรูปแบบการศึกษาที่สำหรับทดสอบวัดภูมิต้านทานโรคในแต่ละชนิด ซึ่งอาจต้องการโปรแกรมวัคซีนที่เหมาะสมมากกว่านี้ หรือศึกษาในไก่ที่ผลิตขึ้นอย่างเฉพาะให้ไม่มีภูมิคุ้มกันต่อโรคที่ต้องการศึกษา นอกจากนี้การศึกษาผลของน้ำมันตะไคร้แกงที่มีต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันสามารถวัดผลได้ด้วยวิธีอื่นๆ เช่น ศึกษาการทำงานของเซลล์ macrophage การศึกษาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อเม็ดเลือดแดงแกะ และการวัดระดับอิมมูโนโกลบูลินทั้งหมด (total Ig) ในเลือด เป็นต้น

สรุปผลการวิจัย

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยต้องการศึกษาผลของการใช้น้ำมันตะไคร้แกงเป็นวัตถุเติมอาหารในไก่ จากการศึกษาเบื้องต้นที่ทำในไก่ไข่ พบว่าน้ำมันตะไคร้แกงมีผลลดจำนวนจุลชีพในลำไส้และกระตุ้นภูมิคุ้มกันจากการทำวัคซีน และมีแนวโน้มในการเพิ่มการเจริญเติบโต ซึ่งเป็นผลที่น่าสนใจทำให้มีการศึกษาต่อยอดในไก่เนื้อ ซึ่งพบว่าการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหารมีผลในการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโต และลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ โดยไม่มีผลต่อเชื้อที่เป็นประโยชน์ ซึ่งผลดังกล่าวนี้เป็นคุณสมบัติที่พึงประสงค์ในการที่จะใช้เป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์เพื่อทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะ พารามิเตอร์อื่นๆที่ทำการศึกษาสามารถนำมาอธิบายผลในการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตได้ ทั้งการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันในเลือด การกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ช่วยย่อยจากตับอ่อน นอกจากนี้ผลของจำนวนเม็ดเลือด และค่าชีวเคมีในเลือด ยังแสดงถึงความปลอดภัยของน้ำมันตะไคร้แกงในขนาดที่ใช้ไม่ส่งผลเสียต่อสุขภาพสัตว์ ในส่วนของขนาดของน้ำมันตะไคร้แกงที่เหมาะสมจะเลือกใช้พบว่าขนาด 200 mg/kg อาหาร เพียงพอที่จะให้ผลดีต่อการเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะอัตราแลกเนื้อ และให้ผลดีในพารามิเตอร์อื่นๆ ทั้งการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันในเลือด การกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ช่วยย่อยจากตับอ่อน จึงอาจสรุปได้ว่าปริมาณของน้ำมันตะไคร้แกงที่เหมาะสมในการใช้เป็นวัตถุเติมในอาหารสัตว์คือ ขนาด 200 mg/kg ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันหอมระเหยชนิดอื่น พบว่าขนาดที่ใช้นี้ต่ำกว่าขนาดการใช้ผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหย (Orego-Stim®) ที่มี carvacrol เป็นองค์ประกอบหลัก ที่มีการศึกษารายงานว่ามีผลพัฒนาให้ไก่มีอัตราแลกเนื้อที่ดีกว่ากลุ่มควบคุม เมื่อใช้ในขนาด 300 มก./กก. (Calislar et al., 2009) ในขณะที่น้ำมันตะไคร้แกงขนาด 400 mg/kg มีความโดดเด่นในผลต่อเชื้อแบคทีเรียในสำไส้ ซึ่งมีความน่าสนใจในการศึกษาเกี่ยวกับการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในร่างกาย ซึ่งยังคงต้องการการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปในอนาคต

การศึกษาครั้งนี้เป็นเพียงจุดเริ่มต้น ที่แสดงให้เห็นถึงคุณประโยชน์ และประสิทธิภาพของน้ำมันตะไคร้แกงซึ่งเป็นสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทยที่มีราคาไม่แพง ที่มีศักยภาพในการใช้เป็นวัตถุเติมในอาหารไก่ได้ อย่างไรก็ตามยังต้องมีการศึกษาและพัฒนาต่อไปในหลายๆด้าน โดยเฉพาะกระบวนการผลิตเพื่อให้มีความคงตัวของน้ำมันตะไคร้แกง และการผสมอาหาร โดยคำนึงถึงต้นทุน และความคุ้มค่าในการใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตไก่ต่อไปในอนาคต

ข้อเสนอแนะ

ควรทำการศึกษาเพิ่มเติมในหัวข้อต่างๆ ดังนี้

1. ศึกษาพัฒนาน้ำมันตะไคร้แกงที่จะผสมอาหารในรูปอาหารเม็ด และศึกษาความคงตัวของน้ำมันตะไคร้แกงเมื่อผสมในอาหาร
2. ศึกษาผลของน้ำมันตะไคร้แกงต่อการต้านอนุมูลอิสระ โดยตรวจวัดเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย และการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันในอวัยวะต่างๆ รวมถึงการศึกษาภายใต้ภาวะที่มีการเหนี่ยวนำ
3. ศึกษากลไกการทำงานในการกระตุ้นเอนไซม์ช่วยย่อยของน้ำมันตะไคร้แกง ความสามารถในการย่อยอาหาร (digestibility) และผลของน้ำมันตะไคร้แกงต่อสมรรถนะของเอนไซม์ช่วยย่อยจากแหล่งอื่น เช่น ต่อมน้ำลาย กระเพาะแท้ และลำไส้เล็กส่วนต้น
4. ศึกษาฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในไก่ และผลของการเสริมน้ำมันตะไคร้แกงในอาหาร ในไก่ที่ได้รับการให้เชื้อ เช่น *Salmonella, Clostridium* และ เชื้อบิด เป็นต้น
5. ศึกษาผลของน้ำมันตะไคร้แกงต่อการทำงานขอระบบภูมิคุ้มกัน ทั้งการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ และไม่จำเพาะ

รายการอ้างอิง

กระทรวงสาธารณสุข. 1987 (2530). ตะไคร้. ใน: *สมุนไพรในงานสาธารณสุขมูลฐาน*. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก. 43-55.

นิจศิริ เรืองรังษี. 1991(2534). ตะไคร้แกง. ใน: *เครื่องเทศ*. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 11-13.

บงกช นพผล, เสรี แข็งแอ, วสันต์ จันทรสนิท และ พิทักษ์ น้อยเมล์. 2004 (2546). การเสริมตะไคร้ผงในอาหารต่อการเจริญเติบโตของไก่พื้นเมืองลูกผสม. *วารสารสมุนไพร*.10(1): 19-23.

รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. 1997 (2540). *พืชเครื่องเทศและสมุนไพร*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. 27-28.

Acamovic, T. and Brooker, J.D. 2005. Biochemistry of plant secondary metabolites and their effects in animals. *Proc Nutr Soc*. 64(3): 403.

Adeneye, A.A. and Agbaje, E.O. 2007. Hypoglycemia and hypolipidemic effects of fresh leaf aqueous extract of *Cymbopogon citratus* Stapf. in rats. *J Ethnopharmacol*. 112: 440-444.

Adisakwattana, S., Chantarasinlapin, P., Thammarat, H., Yibchok-Anun, S. 2009. A series of cinnamic acid derivatives and their inhibitory activity on intestinal alpha-glucosidase. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 24:1194–1200.

Alcicek, A., Bozkurt, M. and Cabuk, M. 2003. The effect of an essential oils combination derived from selected herbs growing wild in Turkey on broiler performance. *S Afr J Anim Sci*. 33: 89-94.

Al-murrani, W.K., Kassab, A.K., Al-sam, H.Z. & Al-athari, A.M.K. 1997. Heterophil / lymphocyte ratio as a selection criterion for heat resistance in domestic fowl. *Br Poultry Sci*. 38: 159–163.

Bachiega, T. F. and Sforcin, J. M. 2011. Lemongrass and citral effect on cytokines production by murine macrophages. *J Ethnopharmacology*, 137(1): 909-913.

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils–a review. *Food chem toxicol*. 46(2): 446-475.

Balla, L., 1986. Use of a standardized HI test for monitoring immunity to Newcastle disease and Experiments to standardize the HI test and Antibody responses after different immunization schedules. *Magyar Allatorvosok Lapja*. 41: 98-109.

Bassole, I.H.N., Lamien-Meda, A., Bayala, B., Obame, L.C., Ilboudo, A.J., Franz, C., Novak, J., Nebi, R.C. and Dicko, M.H. 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils alone and in combination. *Phytomedicine*. 18: 1070-1074.

Bernfield, P. 1955. Amylases alpha and beta. In: *Methods in Enzymology*. vol. 1. Colowick, S.P. and Kaplan, N.O. (Eds.). New York: Academic Press. 149-151.

Bidinotto, L.T., Costa, C.A., Salvadori, D.M., Costa, M., Rodrigues, M.A. and Barbisan, L.F. 2010. Protective effects of lemongrass (*Cymbopogon citratus* STAPF) essential oil on DNA damage and carcinogenesis in female Balb/C mice. *J Appl Toxicol*. 31(6): 536-544.

Botsoglou, N.A., Florou-Paner, P., Chiristaki, E., Fletouris, D.J., Spais, A.B. 2002. Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissue. *Br Poultry Sci*. 43: 223-230.

Bozkurt, M., Kucukyilmaz, K., Pamukcu, M., Cabuk, M., Alcicek, A. and Catli, A.U. 2012. Long-term effects of dietary supplementation with an essential oil mixture on the growth and laying performance of two layer strains. *Ital J Anim Sci*. 11(1): 23-28.

Brenes, A. and Roura, E. 2010. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Anim Feed Sci Tech*. 158: 1-14.

Brisbin, J.T., Gong, J., Lusty, C.A., Sabour, P., Sanei, B., Han, Y., Shewen, P.E. and Sharif, S. 2008. Influence of in-feed virginiamycin on the systemic and mucosal antibody response of chickens. *Poultry Sci*. 87: 1995–1999.

Burt, S.A., van der Zee, R., Koets, A.P., de Graaff, A.M., van Knapen, F., Gaastra, W. and Veldhuizen, E. J. 2007. Carvacrol induces heat shock protein 60 and inhibits synthesis of flagellin in Escherichia coli O157: H7. *Appl Environ Microbiol.* 73(14): 4484-4490.

Calislar, S., Gemci, I. and Kamalak, A. 2009. Effects of Orego-Stim® on broiler chick performance and some blood parameters. *J Anim Vet Adv.* 8: 2617-2620.

Carlini, E.A., Contar, J.D.P., Silva-Filho, A.R., Silverira-Filho, N.G., Frochtergarten, M.L. and Bueno, O.F.A. 1986. Pharmacology of lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf.) I. Effects of teas prepared from the leaves on laboratory animals. *J Ethnopharmacol*. 17(1): 37-64.

Cheel, J., Theoduloz, C., Rodriguez, J. and Schmeda-Hirschmann, G. 2005. Free radical scavengers and antioxidants from lemongrass (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.). *J Agric Food Chem*. 53: 2511-2517.

Ciftci, M., Simsek, U.G., Yuce, A., Yilmaz, O. and Dalkilic, B. 2010. Effects of Dietary Antibiotic and Cinnamon Oil Supplementation on Antioxidant Enzyme Activities, Cholesterol Levels and Fatty Acid Compositions of Serum and Meat in Broiler Chickens. *Acta Vet Brno*. 79: 33-40.

Coates, M. E., R. Fuller, G. F. Harrison, M. Lev, and S. F. Suffolk. 1963. A comparison of the growth of chicks in the Gustafson germ-free apparatus and in a conventional environment, with and without dietary supplements of penicillin. *Br J Nutr*. 17:141-150.

Costa, C.A, Bidinotto, L.T., Takahira, R.K., Salvadori, D.M., Barbisan, L.F. and Costa, M. 2011. Cholesterol reduction and lack of genotoxic or toxic effects in mice after repeated 21-day oral intake of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil. *Food Chem Toxicol*. 49: 2268-2272.

Craig, W.J. 1999. Health-promoting properties of common herbs. *Am J of Clin Nutr*. 70: 491–499.

Cabuk, M., Bozkurt, M., Alcicek, A., Akbaþ, Y., and Küçükyýlmaz, K. 2006. Effect of a herbal essential oil mixture on growth and internal organ weight of broilers from young and old breeder flocks. *S Afr J Anim Sci*. 36(2): 135-141.

Denli, M., Okan, F., & Uluocak, A. N. (2004). Effect of dietary black seed (Nigella sativa L.) extract supplementation on laying performance and egg quality of quail (Coturnix cotnurnix japonica). *J Appl Anim Res*. 26(2): 73-76.

Diliberto, J.J., Usha, G. and Birnbaum, L.S. 1988. Disposition of citral in male Fischer rats. *Drug Metab Dispos*. 16: 721-727.

Edris, A.E. 2007. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytother Res*. 21(4): 308-323.

Emami, K. N., Samie, A., Rahmani, H.R. and Ruiz-Feria, C.A. 2012. The effect of peppermint essential oil and fructooligosaccharides, as alternatives to virginiamycin, on growth performance, digestibility, gut morphology and immune response of male broilers. *Anim Feed Sci Tech*. 175(1): 57-64.

Engberg, R.M., Hedemann, M.S., Leser, T.D. and Jensen, B.B. 2000. Effect of zinc bacitracin and salinomycin on intestinal microflora and performance of broilers. *Poultry Sci*. 79: 1311-1319.

Formigoni, M.L.O.S., Lodder, M.H., Gianotti-Filho, O., Ferreira, T.M.S. and Carlini, E.A. 1986. Pharmacology of lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf.). II. Effects of daily two month administration in male and female rats and in offspring exposed "*in utero*". *J Ethnopharmacol*. 17(1): 65-74.

Franz, C., Baser, K. H. C., and Windisch, W. 2010. Essential oils and aromatic plants in animal feeding–a European perspective. A review. *Flavour and Fragrance journal*. 25(5):327-340.

Gabriel, I., Mallet, S., Leconte, M., Travel, A. and Lalles, J.P. 2008. Effects of whole wheat feeding on the development of the digestive tract of broiler chickens. *Anim Feed Sci Tech*. 142(1): 144-162.

Garcia, V., Catala-Gregori, P., Hernandez, F., Megias, M.D. and Madrid, J. 2007. Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers. *J Appl Poultry Res*. 16: 555-562.

Ghazalah, A. A. and Ali, A.M. 2008. Rosemary leaves as a dietary supplement for growth in broiler chickens. *Int J Poultry Sci*. 7(3): 234-239.

Giannenas, I., Florou-paneri, P., Papazahariadou, M., Christaki, E., Botsoglou, N.A. and Spais, A.B. 2003. Effect of Dietary Supplementation with Oregano Essential Oil on Performance of Broilers after Experimental Infection with *Eimeria tenella*. *Arch Anim Nutr*. 57(2): 99-106.

Geyra, A., Uni, Z. and Sklan, D. 2001. Enterocyte dynamics and mucosal development in the posthatch chick. *Poultry Sci*. 80: 776-782.

Govere, J., Durrheim, D. N., Du Toit, N., Hunt, R. H. and Coetzee, M. 2000. Local Plants as Repellents Against Anopheles arobiensis, in Mpumalanga Province, South Africa. *Cent Afr J Med.* 46(8): 213-216.

Gould, I.M. 2008. The Epidemiology of antibiotic resistance. *Int J Antimicrob Agents*. 68-78.

Guenther, E. 1950. Lemongrass. In: *The Essential Oils*. vol. 4. New York: D. Van Nostrand Company Inc. 20-40.

Gunal, M., Yayli, G., Kaya, O., Karahan, N. and Sulak, O. 2006. The effects of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broilers. *International Journal of Poultry Science*, 5(2): 149-155.

Gurbuz, E., Balevi, T., Kurtoglu, V., Coskun, B., Oznurlu, Y., Kan, Y. and Kartal, M. 2010. Effects of Echinacea extract on the performance, antibody titres, and intestinal histology of layer chicks. *Br Poultry Sci*. 51(6): 805-810.

Gustafson, R. and Bowen, R. 1997. Antibiotic use in animal agriculture. *J Appl Microbiol*. 83: 531-541.

Hashemi, S.R. and Davoodi, H. 2010. Phytogenics as New Class of Feed Additive in Poultry Industry. *J Anil Vet Adv*. 9: 2295-2304.

Hau, P.V. and Benjakul, S. 2006. Purification and characterization of trypsin from pyloric caeca of bigeye snapper (Priacanthus macracanthus). *J Food Biochem*. 30: 478–495.

Helander, I.M., Alakomi, H.L., Latva-Kala, K., Mattila-Sandholm, T., Pol, I., Smid, E.J., Gorris, L.G.M. and Von Wright, A. 1998. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. *J Agric Food Chem*. 46: 3590–3595.

Hernandez, J., Madrid, J., Garcia, V., Orengo, J. and Megias, M.D. 2004. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility and digestive organ size. *Poultry Sci*. 83: 169-174

Hoffman-Pennesi, D., and Wu, C. 2010. The effect of thymol and thyme oil feed supplementation on growth performance, serum antioxidant levels, and cecal Salmonella population in broilers. *J App Poultry Res*. 19(4): 432-443

Jalil, M.A., Samad, M.A. and Islam, M.T. 2010. Evaluation of maternally derived antibodies against newcastle disease virus and its effect on vaccination in broiler chicks. *Bangladesh J Vet Med*. 7(2): 296-302.

Jamroz, D., Wertelecki, T., Houszka, M. and Kamel, C. 2006. Influence of diet type on the inclusion of plant origin active substances on morphological and histochemical characteristics of the stomach and jejenum walls in chicken. *J Anim Physiol An N*. 90: 255-268

Jang, I.S., Ko, Y.H., Kang, S.Y. and Lee, C.Y. 2007. Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. *Anim Feed Sci Tech*. 134: 304-315.

Jones, F.T. and Ricke, S.C. 2003. Observations on the history of the development of antimicrobials and their use in poultry feeds. *Poultry Sci*. 82:613–617.

Khosravinia, H., Ghasemi, S. and Alavi, E.R. 2013. The effect of savory (Satureja khuzistanica) essential oils on performance, liver and kidney functions in broiler chickens. *J Anim Feed Sci*. 474: 46.

Lambert, R.J.W., Skandamis, P.N., Coote, P., Nychas, G.-J.E. 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J App Microbiol*. 91: 453–462.

Lawless, J. 1995. Illustrated Encyclopedia of Essential Oils. In: *The Complete Guide to the Use of Oils in Aromatherapy & Herbalism*. 2nd ed. London :Element Books Ltd. 56-67.

Lee, K.W., Everts, H., Kappert, H.J., Frehner, M., Losa R. and Beynen, A.C. 2003. Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. *Br Poultry Sci*. 44: 450-457.

Leite, J., M.L.V. Seabra, E. Maluf, K. Assolant, D. Suchecki, S. Tufik, S. Klepacz, H.M. Calil and E.A. Carlini. 1986. Pharmacology of lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf.). III. Assessment of eventual toxic, hypnotic and anxiolytic effects on humans. *J Ethnopharmacol*. 17 (1): 75-83.

Lewinsohn, E., N. Dudai, Y. Tadmor, I. Katzir, U. Ravid, E. Putievsky and D.M. Joel. 1998. Histochemical localization of citral accumulation in lemongrass leaves (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf., Poaceae). *Ann Bot*. 81: 35-39.

Liu, K. and Markakis, P. 1989. An improved colorimetric method for determining anti-tryptic activity in soybean products. *Cereal Chem*. 66: 415–422.

Ma, D.Y., Shan, A.S., Chen, Z.H., Du, J., Song, K., Li, J.P. and Xu, Q.Y. 2005. Effects of *ligustrum lucidum* and *schisandra chinensis* on the egg production, antioxidant status and immunity of laying hens during heat stress. *Arch Anim Nutr*. 59:439-447.

Malayoglu, H.B., Baysal, S., Misirlioglu, Z., Polat M.,Yilmaz, H. and Turan, N. 2010. Effects of oregano essential oil with or without feed enzymes on growth performance, digestive enzyme, nutrient digestibility, lipid metabolism and immune response of broilers fed on wheat-soybean meal diets. *Br Poultry Sci*. 51(1): 67-80.

Markovic, R., Sefer, D., Krstic, M. and Petrujkic, B. 2009. Effect of different growth promoters on broiler performance and gut morphology. *Arch Med Vet*. 41: 163-169.

Mirghani, M.E.S., Liyana, Y. and Parveen, J. 2012. Bioactivity analysis of lemongrass (Cymbopogan citratus) essential oil. *Int Food Res J*. 19: 569-575.

Mmereole, F.U.C. 2010. Effects of Lemmon Grass (*Cymbopogon citratus*) Leaf Meal Feed Supplement on Growth Performance of Broiler Chicks. *Int J Poultry Sci*. 9(12): 1107-1111.

Naik, M.I., Fomda, B.A., Jaykumar, E. and Bhat, J.A. 2010. Antibacterial activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) oil against some selected pathogenic bacterias. *Asian Pac Trop Med*. 535-538.

Nakamura, Y., Miyamoto, M., Murakami, A., Ohigashi, H., Osawa, T. and Uchida, K. 2003. A phase II detoxification enzyme inducer from lemongrass: Identification of citral and involvement of electrophilic reaction in the enzyme induction. *Biochem Biophys Res Commun*. 302: 593-600.

Nazef, L., Belguesmia, Y., Tani, A., Prevost, H. and Drider, D. 2008. Identification of Lactic Acid Bacteria from Poultry Feces: Evidence on Anti-*Campylobacter* and Anti-*Listeria* Activities. *Poultry Sci*. 87: 329-334.

Ogunlana, E. O., Hoglund, S., Onawunmi, G., and Skold, O. 1987. Effects of lemongrass oil on the morphological characteristics and peptidoglycan synthesis of *Escherichia coli* cells. *Microbios.* 50(202): 43-59.

Onawunmi, G. O., Yisak, W. A. and Ogunlana, E. O. 1984. Antibacterial Constituents In the Essential Oil of *Cymbopogon citratus (DC.)* Stapf. *J Ethnopharmacol*. 12(3): 279-286.

Opdyke, D.L.J. 1976. Monographs on fragrance raw materials. *Food Cosmet Toxicol*. 14: 455-457.

Pedroso, R.B., T. Ueda-Nakamura, B.P. Dias Filho, D.A.G. Cortez, L.E.R. Cortez, J.A. Morgado-Díaz and C.V. Nakamura. 2006. Biological activities of essential oil obtained from Cymbopogon citratus on Crithidia deanei. *Acta Protozool*. 45: 231-240.

Placer, Z.A., Cushman, L.L. and Johnson, B.C. 1966. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyldialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem*. 16(2): 359-364.

Rabbani, S.I., Devi, K., Khanam, S. and Zahra, N. 2006. Citral, a component of lemongrass oil inhibits the clastogenic effect of nickel chloride in mouse micronucleus test system. *Pak J Pharm Sci*. 19(2): 108-113.

Rice-Evans, C., Miller, N. and Paganga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci*. 2(4), 152-159.

Rim, I.S. and C.H. Jee. 2006. Acaricidal effects of herb essential oils against Dermatophagoides farinae and D. pteronyssinus (Acari: Pyroglyphidae) and qualitative analysis of a herb Mentha pulegium (pennyroyal). *Korean J Parasitol.* 44 (2): 133-138.

Roofchaee, A., Irani, M., Ebrahimzadeh, M. A., and Akbari, M. R. 2011. Effect of dietary oregano (Origanum vulgare L.) essential oil on growth performance, cecal microflora and serum antioxidant activity of broiler chickens. *Afr J Biotechnol*. 10(32): 6177-6183.

Saeed, Z., Ahmad, S., Rizvi, A.R. and Ajmal, M. 1988. Role of maternal antibody in determination of an effective Newcastle disease vaccination programme. *Pak J Vet Res*. 1: 18-21.

Santin, M.R., Dos Santos, A.O., Nakamura, C.V., Dias-Filho, B.P., Ferreira, I.C. and Ueda-Nakamura, T. 2009. In vitro activity of the essential oil of *Cymbopogon citratus* and its major component (citral) on *Leishmania amazonensis*. *Parasitol Res*. 5: 1489-1496.

Sasipreeyajan, J., Sarachai, C., Chansiripornchai, N. and Chukiatsiri, K. 2007. Different vaccination program against Newcastle disease in broiler chickens. In: *Proceedings on the 8th Asian Pacific Poultry Conference*.182-185.

Sayrafi, R., Soltanalineja, F., Shahroo, R. and Rahimi, S. 2011. Comparative study of the effect of alternative and antibiotic feed additives on the performance and intestinal histomorphometrical parameters of broiler chickens. *Afr J Agri Res*. 6(12): 794-799

Schaneberg, B.T. and Khan, I.A. 2002. Comparison of Extraction Methods for Marker Compounds in the Essential Oil of Lemon Grass by GC. *J Agric Food Chem*. 50: 1345-1349.

Sforcin, J.M., Amarala, J.T., Fernandes Jr, A., Sousa, J.P.B. and Bastos, J.K. 2009. Lemongrass effects on IL-1β and IL-6 production by macrophages. *Nat Prod Res*. 23(12): 1151-1159.

Takaisi-Kikuni, N. B., Kruger, D., Gnann, W., and Wecke, J. 1996. Microcalorimetric and electron microscopic investigation on the effects of essential oil from Cymbopogon densiflorus on Staphylococcus aureus. *Microbios*. 88(354): 55-62.

Van de Bogaard, A.E. and Stobberingh, E.E. 2000. Epidemiology of resistance to antibiotics, Links between animals and humans. *Int J Antimicrob Agents*. 14: 322-335.

Van de Braak, S.A.A.J. and Leijten, G.C.J.J. 1999. *Essential Oils and Oleoresins: A Survey in the Netherlands and other Major Markets in the European Union*. CBI, Centre for the Promotion of Imports from Developing Countries, Rotterdam.116.

Viana, G.S.B., Vale, T.G., Pinho, R.S.N. and Matos F.J.A. 2000. Antinociceptive effect of the essential oil from *Cymbopogon citratus* in mice. *J Ethnopharmacol*. 70: 323-327.

Wald, C. 2004. Die Wirkung phytogener Zusatzstoffe in der Tierernährung. *Lohmann information*. 2: 19-22.

Wallace, R.J., Oleszek, W., Franz, C., Hahn, I., Baser, K.H.C., Mathee, A., and Teichmann, K. 2010. Dietary plant bioactive for poultry health and productivity. *Br Poultry Sci*. 51(4): 461-487.

Wannissom, B., Jarikasem, S., Soontorntanasart, T. 1996. Antifungal Activity of Lemon Grass Oil and Lemon Grass Oil Cream. *Phytother Res*. 10(7): 551-554.

Windisch, W., Schedle, K., Plitzner, C. and Kroismayr, A. 2008. Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. *J Anim Sci*. 86(14 Suppl): E140-8.

Wynn, S.G. and Fougere, B.J. 2007. Regulation and quality control. In : *Veterinary Herbal Medcine*. St. Louis, Missouri: Mosby Elsevier. 99-119.

Zakeri, A. and Kashefi, P. 2011. The comparative effects of five growth promoters on broiler chickens humoral immunity and performance. *J Anim Vet Adv*. 10(9): 1097-1101.

ภาคผนวก

ภาคผนวก

1. การเตรียมน้ำยาเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ TBARs

1.1 สารละลาย 15% TCA (trichloroacetic acid)

- สารละลาย TCA 15% คือ สาร TCA 15 กรัม/100 มิลลิลิตร
- ชั่ง TCA 10 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่น จำนวนหนึ่งเพื่อทำละลาย
- ปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร

1.2 สารละลาย BHT 50 ไมโครโมลลาร์ (μM)

- ชั่ง BHT 110.18 มิลลิกรัม ละลายใน ethanol
- ปรับปริมาตรใน ขวดปรับปริมาตร ขนาด 10 มิลลิลิตร

1.3 สารละลาย 0.67% TBA (thiobarbituric acid)

- สารละลาย TBA 0.67% คือ สาร TBA 0.67กรัม / 100 มิลลิลิตร เตรียมครั้งละ 50 มิลลิลิตร
- ชั่ง TBA 0.335 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ แล้วเติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร
- ใส่ magnetic stirrer แล้วนำไปตั้งบนเครื่อง stirrer เพื่อคนสารละลาย โดยไม่ต้องใช้ความร้อน
- สารละลาย TBA ต้องเตรียมใหม่ก่อนใช้ทุกครั้ง คนด้วยเครื่อง stirrer ตลอดเวลาที่ใช้งาน

1.4 สารละลายมาตรฐาน malondyaldehyde (MDA standard)

1.4.1 เตรียม MDA stock solution ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลลาร์

- MDA 1 มิลลิโมลลาร์ เท่ากับ MDA 3.14 มิลลิกรัม/10 มิลลิลิตร
- ชั่ง MDA 3.14 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่น
- ปรับปริมาตรใน ขวดปรับปริมาตร ขนาด 10 มิลลิลิตร
- เทใส่ภาชนะทึบแสง และเก็บแช่เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

1.4.2 เตรียม MDA standard concentration

- จาก MDA stock solution ความเข้มข้น 1 mM นำมาเจือจาง 100 เท่า จะได้ MDA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลลาร์
- เตรียมโดย ใช้ MDA stock solution100 ไมโครลิตร + น้ำกลั่น 990 ไมโครลิตร

- ทำ 2-fold serial dilution เพื่อให้ได้ความเข้มข้นสารละลาย MDA ในช่วง 0-10 ไมโครโมลลาร์

2. การเตรียม 10% buffer formalin สำหรับการดองชิ้นเนื้อลำไส้

2.1 สารเคมีที่ใช้

- 40% Formaldehyde 100 มิลลิลิตร
- Sodium phosphate monobasic 4.0 กรัม
- Sodium phosphate dibasic (anhydrous) 6.5 กรัม

2.2 วิธีการเตรียม

- ชั่งสารเคมี Sodium phosphate monobasic 4.0 กรัม และ Sodium phosphate dibasic (anhydrous) 6.5 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 20 มิลลิลิตร
- ใส่ 40% Formaldehyde 100 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร ขนาด 1000 มิลลิลิตร
- เติม น้ำกลั่น เพื่อละลายสารให้เข้ากัน แล้วเทลงใน ขวดปรับปริมาตร
- เติม น้ำกลั่น จนครบ 1000 มิลลิลิตร ปิดจุก พลิกไปมาให้สารเข้ากัน
- นำไปปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ 7.2 ± 0.5 วัดด้วย pH meter
- เทใส่ภาชนะมีฝาปิดมิดชิด

3. การเตรียมบัฟเฟอร์ที่ใช้ในการวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์จากตับอ่อน

3.1 สารละลาย Tris buffer (0.05 M tris with 0.154 M KCl pH 7.5)

3.1.1 สารเคมี

- Trizma HCl 7.88 กรัม
- KCL 11.5 กรัม

3.1.2 วิธีการเตรียม

- นำ Trizma HCl และ KCL มาละลายในน้ำกลั่น
- ปรับปริมาตรด้วย น้ำกลั่น ครบ 1000 มิลลิลิตร
- ปรับ pH ด้วย 1M NaOH

3.1.3 การใช้งาน

3.1.3.1 ใช้เป็นตัวเจือจางตัวอย่างในการวิเคราะห์ (assay buffer)

3.1.3.2 ใช้ในการ homogenize ตับอ่อน (isolation buffer):

- ใช้ Tris buffer + 1% tritonX-100

4. **การเตรียมน้ำยาเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์** Trypsin activity

4.1 สารละลาย 1% enterokinase

- ชั่ง enterokinase 0.25 กรัม ละลายใน assay buffer 25 มิลลิลิตร
- ปรับปริมาตรด้วย ขวดปรับปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร
- เทแบ่งสารละลายที่ได้ใส่ microtube จากนั้นนำไป centrifuge ที่ความเร็ว 8000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที
- ดูดส่วนใสมารวมกันก่อน จากนั้นแบ่งใส่ microtube ใหม่ และนำไปแช่แข็งที่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อเก็บไว้ใช้ในการวิเคราะห์

4.2 สารละลาย BAPNA (*N*-**α**-Benzoyl-DL-arginine 4-nitroanilide hydrochloride)

4.2.1 เตรียม 1% BAPNA stock solution

- ชั่ง 0.1 กรัม ละลายใน Dimethysulfoxide (DMSO) 10 มิลลิลิตร

4.2.2 เตรียม BAPNA working solution ความเข้มข้น 2 มก./มล.

- คำนวณ $C_1V_1 = C_2V_2$
- เอา Stock BAPNA ตามที่คำนวณได้ เติม assay buffer จนได้ปริมาตรตามต้องการ

4.3 สารละลาย 30% acetic

- 100% acetic acid ปริมาตร 30 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
- ปรับปริมาตรใน ขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร

5. **การเตรียมน้ำยาเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ α-Amylase activity**

5.1 สารละลายแป้ง 1%

- **ชั่ง soluble starch มา 1 กรัม ละลายในสารละลาย น้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร**
- **ให้ความร้อนเพื่อให้ละลายง่ายขึ้น ทิ้งไว้ให้เย็นลง**
- **ปรับปริมาตรใน ขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร**
- **บ่มไว้ที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ก่อนนำไปใช้วิเคราะห์**

5.2 Dinitrosalicylic acid reagent

5.2.1 สารเคมีที่ใช้

- 3,5-dinitrosalicylic acid 1.0 กรัม
- Phenol 0.2 กรัม
- Sodium sulfate 0.05 กรัม
- Sodium hydroxide 1 กรัม

5.2.2 วิธีการ

- ชั่งสารเคมีทั้งหมด ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
- ใส่ magnetic stirrer แล้วนำไปตั้งบนเครื่อง stirrer เพื่อคนสารละลายโดยไม่ต้องใช้ความร้อน
- ปรับปริมาตรใน ขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร
- เทใส่ภาชนะทึบแสง มีฝาปิดมิดชิด

5.3 สารละลาย 40%Sodium potassium tartrate tetrahydrate

- ชั่งสาร Sodium potassium tartrate tetrahydrate มา 40 กรัม
- เติมน้ำกลั่น และ ปรับปริมาตรใน ขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร

5.4 α-amylase 3 ยูนิต/มิลลิลิตร (positive control)

5.4.1 คำนวณปริมาณที่ต้องใช้

- α-amylase 1 มิลลิกรัม solid = 15.8 ยูนิต ของ amylase
- เตรียม 3 ยูนิต/มิลลิลิตร ปริมาณ 25 มิลลิลิตร = 75 ยูนิต = 75/15.8 = 4.75 มิลลิกรัม

5.4.2 วิธีการเตรียม

- ชั่ง α-amylase มา 4.75 มิลลิกรัม ละลายใน 10M PBS ปริมาตร 25 มิลลิลิตร
- จากนั้นนำมา centrifuge ที่ 4000 รอบต่อนาที นาน 4 นาที เก็บส่วนใสแช่แข็งที่ -20 องศาเซลเซียส

5.5 สารละลายมาตรฐาน Maltose

5.5.1 maltose stock solution 0.2%

- ชั่ง Maltose มา 0.2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
- ปรับปริมาตรใน ขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร

5.5.2 maltose standard concentration ในช่วง 0.1-1 มก./มล.

- เตรียม maltose standard concentration ในช่วง 0.1-1 มก./มล. ปริมาตร 250 ไมโครลิตร จาก stock solution 2 มก./มล. ดังนี้

ความเข้มข้น	Maltose	น้ำกลั่น
Blank	-	+ 250
0.1	12.5	+ 237.5
0.2	25	+ 225
0.4	50	+ 200
0.6	75	+ 175
0.8	100	+ 150
1.0	125	+ 125

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวกานต์อนุช วสุนธรารักษ์ เกิดเมื่อวันที่ 27 มีนาคม พ.ศ. 2530 ที่จังหวัดยะลา สำเร็จการศึกษาระดับชั้นมัธยมจากโรงเรียนเตรียมอุดมศึกษาน้อมเกล้า จังหวัดกรุงเทพมหานคร ปี 2548 เข้าศึกษาที่ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และสำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีสัตวแพทยศาสตร์บัณฑิตในปีการศึกษา 2553 และในปีการศึกษา 2554-2556 ได้เข้าศึกษาต่อในระดับมหาบัณฑิตหลักสูตรวิชาเภสัชวิทยาทางสัตวแพทย์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย