การเสริมโคลีน กรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ในไก่ไข่ ต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ และระดับฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่

นางสาวณัฏฐนันท์ จนิษฐ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
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 University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2558
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

SUPPLEMENTATION OF CHOLINE, FOLIC ACID AND VITAMIN B_{12} IN LAYER ON PRODUCTIVE PERFORMANCE, EGG QUALITY AND PHOSPHATIDYLCHOLINE IN EGG.

Miss Nattanan Janit

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Animal Nutrition
Department of Animal Husbandry
Faculty of Veterinary Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2015

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การเสริมโคลีน กรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ในไก่ไข่ ต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ และระดับฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่
โดย	นางสาวณัฏฐนันท์ จนิษฐ
สาขาวิชา	อาหารสัตว์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ สุวรรณา กิจภากรณ์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ดร.ไพรัตน์ ศรีชนะ
	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นาย สัตวแพทย์ ดร. ทนง อัศวกาญจน์

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์

(ศาสตราจารย์ นาย สัตวแพทย์ ดร.รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ศาสตราจารย์ นาย สัตวแพทย์สมชาย จันทร์ผ่องแสง)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ สุวรรณา กิจภากรณ์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ดร.ไพรัตน์ ศรีชนะ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นาย สัตวแพทย์ ดร. ทนง อัศวกาญจน์)

.....กรรมการ

(อาจารย์ สัตวแพทย์ หญิง ดร.อนงค์นาฏ อัศวชีพ)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นลินี อิ่มบุญตา)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยุวเรศ เรืองพานิช)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ณัฏฐนันท์ จนิษฐ : การเสริมโคลีน กรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ในไก่ไข่ ต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ และระดับฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่ (SUPPLEMENTATION OF CHOLINE, FOLIC ACID AND VITAMIN B_{12} IN LAYER ON PRODUCTIVE PERFORMANCE, EGG QUALITY AND PHOSPHATIDYLCHOLINE IN EGG.) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. สุวรรณา กิจภากรณ์, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ดร.ไพรัตน์ ศรีชนะ, ผศ. น.สพ. ดร. ทนง อัศวกาญจน์, 58 หน้า.

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมโคลีน กรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ในอาหารไก่ไข่ต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีน และฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในไข่แดง โดยแบ่งออกเป็น 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 ใช้ไก่ไข่พันธุ์ ISA brown อายุ 44 สัปดาห์ จำนวน 840 ตัว ทำการสุ่มไก่แบ่งออกเป็น 5 กลุ่มๆ ละ 6 ซ้ำๆ ละ 28 ตัว ไก่แต่ละกลุ่มจะได้รับอาหารทดลองหนึ่งชนิดจาก 5 ชนิดเป็นเวลา 6 สัปดาห์ อาหารทดลองประกอบด้วย กลุ่มที่ 1 อาหารพื้นฐานที่มีโคลีนตามคำแนะนำของสายพันธุ์ และกลุ่มที่ 2-5 เป็นอาหารพื้นฐานเสริมด้วยโคลีนระดับ 1,000 1,500 2,000 และ 2,500 มก./กก.อาหาร ตามลำดับ การทดลองที่ 2 ใช้ไก่ไข่พันธุ์ ISA brown อายุ 72 สัปดาห์ จำนวน 288 ตัว แบ่งออกเป็น 9 กลุ่มๆ ละ 4 ซ้ำๆ ละ 8 ตัว ไก่แต่ละกลุ่มจะได้รับอาหารทดลองหนึ่งชนิดจาก 9 ชนิดเป็นเวลา 8 สัปดาห์ อาหารทดลองประกอบด้วย กลุ่มที่ 1 อาหารพื้นฐานที่เสริมโคลีนในระดับที่ให้ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงมีค่าสูงที่สุดจากการทดลองที่ 1 และกลุ่มที่ 2-9 อาหารพื้นฐานร่วมกับการเสริมกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ที่ระดับ 0×0.02 0×0.04 4×0 4×0.02 4×0.04 8×0 8×0.02 และ 8×0.04 มก./กก.อาหาร ตามลำดับ ทั้ง 2 การทดลองทำการเก็บข้อมูลสมรรถภาพการผลิตตลอดการทดลอง ขณะที่คุณภาพไข่ ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนและฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในไข่ ประเมิน และวิเคราะห์เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

การเสริมโคลีนทุกระดับในการทดลองที่ 1 และการเสริมโฟลิค หรือวิตามิน บี 12 รวมทั้งการเสริมวิตามินทั้ง 2 ตัวร่วมกันทุกระดับในการทดลองที่ 2 ไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถภาพการผลิตในทุกด้าน ได้แก่น้ำหนักไก่ที่เปลี่ยนแปลง อัตราการตาย ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ มวลไข่ ปริมาณอาหารที่กิน อัตราการเปลี่ยนอาหาร และต้นทุนค่าอาหารต่อการผลิตไข่ 1 กิโลกรัม ($P>0.05$) และไม่ส่งผลต่อคุณภาพไข่ที่ตรวจวัด ได้แก่ค่าฮอกยูนิต สีไข่แดง น้ำหนักไข่แดง น้ำหนักไข่ขาว และน้ำหนักเปลือกไข่ ($P>0.05$) การเสริมโคลีนที่ระดับ 1,500 มก./กก.อาหาร ทำให้ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงเพิ่มสูงที่สุด ($P<0.0001$) และทำให้ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนลดลงต่ำสุด ($P<0.0001$) ในขณะที่การเสริมในระดับสูงขึ้น (2,000-2,500 มก./กก.อาหาร) ไม่สามารถเพิ่มและลดความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนและฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในไข่แดงได้อีก ($P>0.05$) ส่วนการเสริมกรดโฟลิค หรือวิตามินบี 12 และการเสริมวิตามินทั้ง 2 ตัวร่วมกันไม่สามารถเพิ่มความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีน หรือลดความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในไข่แดงในอาหารที่เสริมโคลีน 1,500 มก./กก. ได้ ($P>0.05$) ผลการทดลองสรุปได้ว่า การเสริมโคลีนในอาหารที่ระดับ 1,500 มก./กก. ทำให้ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนเพิ่มขึ้นสูงสุด และทำให้ฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนลดต่ำที่สุด การเสริมกรดโฟลิค หรือวิตามินบี 12 และทั้ง 2 อย่างร่วมกันในอาหารที่เสริมโคลีนสูง 1,500 มก./กก.อาหาร ไม่สามารถเพิ่มปริมาณฟอสฟาทิดิลโคลีนได้อีก รวมทั้งไม่ส่งผลกระทบใดๆต่อสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพไข่

ภาควิชา สัตวบาล
สาขาวิชา อาหารสัตว์
ปีการศึกษา 2558

ลายมือชื่อนิสิต .....
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม .....
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม .....

5675303531 : MAJOR ANIMAL NUTRITION
KEYWORDS: CHOLINE, FOLIC ACID, VITAMIN B12, PRODUCTIVE PERFORMANCE, EGG QUALITY, PHOSPHATIDYLCHOLINE, PHOSPHATIDYLETHANOLAMINE, LAYER

NATTANAN JANIT: SUPPLEMENTATION OF CHOLINE, FOLIC ACID AND VITAMIN B_{12} IN LAYER ON PRODUCTIVE PERFORMANCE, EGG QUALITY AND PHOSPHATIDYLCHOLINE IN EGG.. ADVISOR: ASSOC. PROF. SUWANNA KIJPARKORN, CO-ADVISOR: PAIRAT SRICHANA, Ph.D., ASST. PROF. TANONG ASAWAKARN, Ph.D., 58 pp.

The objective of this study was to investigate the effect of choline folic acid and vitamin B_{12} on productive performance, egg quality, phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE) concentration in yolk. This study was divided into two experiments. Experiment 1: 840 ISA brown layers, age 44 weeks, were randomly allocated into 5 groups of 6 replicates with 28 layers each. Layers in each group were assigned to feed each treatment diet for 6 weeks. The 5 treatment diets were group 1 basal diet that contained choline at breed recommendation level and groups 2-5 basal diet supplemented with choline at level of 1,000, 1,500, 2,000 and 2,500 mg/kg diet, respectively. Experiment 2: 288 ISA brown layers, age 72 weeks, were randomly allocated into 9 groups of 4 replicates with 8 layers each. Layers in each group were assigned to feed each treatment diet for 8 weeks. The 9 treatment diets were group 1 basal diet supplemented with choline level that gave the highest PC concentration result in experimental 1 and groups 2-9 basal diet supplemented with folic acid and vitamin B_{12} at the level of 0×0.02, 0×0.04, 4×0, 4×0.02, 4×0.04, 8×0, 8×0.02 and 8×0.04 mg/kg diet, respectively. Productive performances data were collected throughout the experimental periods. While egg quality, and phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE) concentration were evaluated and analyzed at the end of the experiment.

Supplementation of choline in experimental 1 and folic acid or vitamin B_{12} or combination in experiment 2 did not effect on productive performance: body weight change, mortality, egg production, egg weight, egg mass, feed intake, feed conversion ratio, and feed cost/kg egg ($P>0.05$) and egg quality: Haugh units, yolk color, yolk weight, albumin weight and shell weight ($P>0.05$). Choline supplementation at the level of 1,500 mg/kg diet gave the highest yolk PC ($P<0.0001$) and lowest yolk PE concentration ($P<0.0001$) while the higher level (2,000-2,500 mg/kg diet) did not show any improvement. Folic acid and/or vitamin B_{12} supplemented in basal diet that contained choline 1,500 mg/kg did not give any benefit on yolk PC and PE concentration ($P>0.05$). In conclusion, the highest PC and lowest PE concentrations in yolk were detected when choline was supplemented at the level of 1,500 mg/kg diet over breed recommendation. While supplementation of folic acid or vitamin B_{12} or combination of both vitamins in diet contained choline 1,500 mg/kg diet could not show any benefit on PC and also on productive performance and egg quality.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Department:	Animal Husbandry	Student's Signature	.....
Field of Study:	Animal Nutrition	Advisor's Signature	.....
Academic Year:	2015	Co-Advisor's Signature	.....
		Co-Advisor's Signature	.....

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รศ. สุวรรณา กิจภากรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาในการทำวิทยานิพนธ์ที่ให้คำปรึกษาแนะนำในการทำวิจัย แก้ปัญหาด้านการวิจัย รวมทั้งตรวจสอบ และแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์เล่มนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ดร.ไพรัตน์ ศรีชนะ และ ผศ.น.สพ.ดร.ทนง อัศวกาญจน์ ที่ให้คำแนะนำในการทำงานวิจัย รวมทั้งความช่วยเหลือด้านต่าง ๆ ในการทำวิจัยครั้งนี้ และขอกราบขอบพระคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่าน ที่กรุณาให้คำแนะนำข้อแก้ไขเพื่อปรับปรุงให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น รวมทั้งขอบพระคุณหน่วยงาน และผู้มีรายนามดังต่อไปนี้ ที่ให้ความอนุเคราะห์งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้

1. บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา เพื่อเฉลิมฉลองวโรกาสที่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวภูมิพลอดุลยเดชทรงเจริญพระชนมายุครบ 72 พรรษา

2. บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนวิจัยภายใต้ชื่อทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเษกสมโภชและทุนสนับสนุนนิสิตระดับปริญญาโทไปเสนอผลงานวิชาการในประเทศ

3. บัณฑิตวิทยาลัย คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ร่วมให้ทุนสนับสนุนการวิจัย

4. สำนักวิชาการอาหารสัตว์ ศูนย์วิจัยคุณภาพอาหารสัตว์ บริษัทซีพีเอฟ (ประเทศไทย) จำกัด (มหาชน) ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ทำการทดลองภาคสนาม เครื่องมือ และห้องปฏิบัติการวิเคราะห์คุณภาพไข่

5. โรงงานอาหารสัตว์บริษัทซีพีเอฟ (ประเทศไทย) จำกัด (มหาชน) ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการผลิตอาหารทดลอง วิเคราะห์ค่าโภชนะทางอาหาร และห้องปฏิบัติการในการวิเคราะห์ทางเคมี

6. ภาควิชาสัตวบาล และหน่วยชีวเคมี ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือ สารเคมี และห้องปฏิบัติการในการวิเคราะห์ทางเคมี

7. นักวิชาการ และเจ้าหน้าที่บริษัทซีพีเอฟ (ประเทศไทย) จำกัด (มหาชน) ทุกท่านโดยเฉพาะอย่างยิ่ง น.สพ.ดร.พิภพ สดสี คุณธัญวรรณ อุทรักษ์ และ คุณอรจิตรา เครือวิทวัส ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการประสานงาน แนะนำการวางแผนการทดลอง การเลี้ยงสัตว์ และการวิเคราะห์ข้อมูลรวมทั้ง คุณนนทวัฒน์ บางเอี่ยม ที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือในการวิเคราะห์ฟอสโฟลิปิด และการเตรียมสารเคมี

8. เจ้าหน้าที่บริษัท ไวต้า จำกัด โดยเฉพาะอย่างยิ่งคุณทัศนประภา เลิศศรีมงคล และ คุณจารุวรรณ ชวนขุนทด ที่ให้คำแนะนำในการวิเคราะห์ทางเคมี และตรวจสอบผลวิเคราะห์ทางเคมี

9. คณาจารย์ และเจ้าหน้าที่ภาควิชาสัตวบาล คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทุกท่านที่ให้คำแนะนำในการทำงานวิจัย การจัดทำเอกสาร และการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ

สุดท้ายนี้ งานวิจัยจะไม่สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้หากขาดการสนับสนุน ความช่วยเหลือ และกำลังใจจากบุคคลในครอบครัว ตลอดจนความช่วยเหลือจากเพื่อน และพี่ทุกท่านที่แนะนำช่วยแก้ไขปัญหาในการทำวิจัย จนทำให้งานวิจัยครั้งนี้เสร็จสมบูรณ์ไปด้วยดี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญรูปภาพ ..... ญ

บทที่ 1 บทนำ 1

บทที่ 2 เอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4

ฟอสฟาทิดิลโคลีน (Phosphatidylcholine) 4

ประโยชน์ของฟอสฟาทิดิลโคลีน 4

กระบวนการสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีน 5

กระบวนการขนส่งฟอสฟาทิดิลโคลีน และฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนเข้าสู่ไข่แดง 7

โคลีน (Choline) 8

กรดโฟลิค (Folic acid) 10

วิตามินบี 12 (Vitamin B_{12}) 13

ผลของโคลีนต่อสมรรถภาพการผลิต และคุณภาพไข่ 15

ผลของการเสริมกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ต่อสมรรถภาพการผลิต และคุณภาพไข่ 16

ผลของการเสริมโคลีน กรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ต่อระดับฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่ 17

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 19

สัตว์ทดลองและการจัดการ 19

การเก็บข้อมูล 22

การประเมินสมรรถภาพการผลิต และคุณภาพไข่ 23

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

หน้า

การวิเคราะห์ตัวอย่าง 25
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 27
บทที่ 4 ผลการทดลอง 28
คุณค่าทางโภชนะของอาหารทดลองที่ 1 28
ผลของโคลีนต่อสมรรถภาพการผลิต 28
ผลของโคลีนต่อคุณภาพไข่ 28
ผลของโคลีนต่อความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดง 29
ผลของโคลีนต่อความเข้มข้นฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในไข่แดง 29
คุณค่าทางโภชนะของอาหารทดลองที่ 2 30
ผลของกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ต่อสมรรถภาพการผลิต 30
ผลของกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ต่อคุณภาพไข่ 30
ผลของกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ต่อความเข้มข้นฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดง 31
ผลของกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ต่อความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในไข่แดง 31
บทที่ 5 วิจารณ์ และสรุป 39
วิจารณ์ผลการทดลองที่ 1 39
วิจารณ์ผลการทดลองที่ 2 45
สรุปผลการทดลอง 49
รายการอ้างอิง 50
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 58

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบอาหาร และค่าคำนวณโภชนะของอาหาร 21
ตารางที่ 2 Gradient program สำหรับแยกฟอสฟาทิดิลโคลีน และฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีน..... 27
ตารางที่ 3 คุณค่าทางโภชนะของอาหาร 32
ตารางที่ 4 ผลของโคลีนต่อสมรรถภาพการผลิตในการทดลองที่ 1 33
ตารางที่ 5 ผลของโคลีนต่อคุณภาพไข่ในการทดลองที่ 1..... 34
ตารางที่ 6 ผลของการเสริมกรดโฟลิคร่วมกับวิตามินบี 12 ต่อสมรรถภาพการผลิตในไก่ไข่ในการทดลองที่ 2 36
ตารางที่ 7 ผลของการเสริมกรดโฟลิคร่วมกับวิตามินบี 12 ต่อคุณภาพไข่ในการทดลองที่ 2..... 37
ตารางที่ 8 ผลของการเสริมกรดโฟลิคร่วมกับวิตามินบี 12 ต่อความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนและฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในการทดลองที่ 2..... 38

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญรูปภาพ

ภาพที่ 1 การสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีนผ่าน CDP-choline pathway 6
ภาพที่ 2 การเติมหมู่เมทิลแบบเป็นลำดับขั้นให้กับเอทาโนลามีน 7
ภาพที่ 3 โครงสร้างโคลีน 9
ภาพที่ 4 Pteroylglutamic acid 11
ภาพที่ 5 โครงสร้างของวิตามินบี 12 13
ภาพที่ 6 ผลของโคลีนต่อความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีน (ก.) และฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีน (ข.) ในไข่แดงในการทดลองที่ 1 35

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 1

บทนำ

โรคหัวใจ และโรคที่เกี่ยวข้องกับหลอดเลือดเป็นกลุ่มโรคที่ส่งผลกระทบต่อประชาชนจำนวนมากซึ่งสาเหตุหลักของการเป็นโรคดังกล่าวพบว่ามาจากวิถีชีวิตและการเลือกรับประทานอาหารที่ไม่เหมาะสมจึงส่งผลให้เกิดภาวะน้ำหนักเกิน ความดันโลหิตสูง เบาหวาน และคอเลสเตอรอลในเลือดสูง ทั้งหมดนี้เป็นปัจจัยเสี่ยงที่นำไปสู่ภาวการณ์เกิดโรคหัวใจ และโรคที่เกี่ยวข้องกับหลอดเลือด (Jame and Cleeman, 2001; Pearson., et al 2002) จากรายงานสถิติโรคในประเทศไทยปี พ.ศ. 2555 พบจำนวนผู้ที่เป็นโรคเกี่ยวกับระบบหัวใจและหลอดเลือดสูงเป็นอันดับ 4 และมีอัตราการตายสูงถึง 5.97 เปอร์เซ็นต์ (กรมการแพทย์, 2012) จากปัจจัยข้างต้นจึงทำให้ประชาชนให้ความสนใจในเรื่องของสุขภาพมากขึ้นรวมถึงการหลีกเลี่ยงรับประทานอาหารที่มีไขมัน และคอเลสเตอรอลสูง (Pearson et al., 2002) เพื่อลดความเสี่ยงที่จะเกิดโรคดังกล่าว โดยการแนะนำของ American Health Association รายงานว่าระดับคอเลสเตอรอลที่ได้รับต่อวันควรมีระดับน้อยกว่า 300 มิลลิกรัม (Pearson et al., 2002)

ไข่ไก่เป็นแหล่งโปรตีนราคาถูกที่นำมาประกอบอาหารได้ง่าย และให้คุณค่าทางโภชนาการสูง เนื่องจากโปรตีนในไข่สามารถย่อยได้สูง และไข่ไก่ยังเป็นแหล่งวิตามินและแร่ธาตุหลายชนิด (Anton et al., 2005) แต่การบริโภคไข่ยังไม่เป็นที่นิยมมากเนื่องจากความเชื่อที่ว่าการบริโภคไข่มากเกินไปจะทำให้เกิดโรคหัวใจ (สำนักงานนโยบายและยุทธศาสตร์ทางการค้าสินค้าเกษตร, 2012) เพราะไข่ไก่ 1 ฟองมีคอเลสเตอรอลเฉลี่ย 217 มิลลิกรัม (Vorlova et al., 2001) จึงส่งผลให้การบริโภคไข่ลดลง เป็นเหตุให้นักวิจัยจำนวนมากพยายามที่จะหาวิธีลดระดับคอเลสเตอรอลในไข่เพื่อกระตุ้นให้เกิดการบริโภคไข่สูงขึ้น (Elkin, 2006) แต่พบว่าการลดระดับคอเลสเตอรอลในไข่ค่อนข้างทำได้ยาก เนื่องจากแม่ไก่มีการสร้างคอเลสเตอรอลในปริมาณสูงสำหรับสะสมในไข่เพื่อการเจริญเติบโตของตัวอ่อน (Larbier and Leclercq, 1994; Elkin, 2006) จึงทำให้นักวิจัยเบนความสนใจในการยกระดับคุณภาพไข่ทางด้านอื่นแทน เช่น ไข่ไก่ที่อุดมไปด้วยโอเมก้า 3 หรือไข่ไก่ที่มีระดับวิตามินต่าง ๆ สูงขึ้น (Elkin, 2006) แต่ก็ยังคงพบว่าอัตราการบริโภคไข่ของคนไทยยังอยู่ในระดับต่ำ (150 ฟอง/คน/ปี) เมื่อเทียบกับค่าเฉลี่ยของภูมิภาคเดียวกัน เช่น มาเลเซีย (220 ฟอง/คน/ปี) ญี่ปุ่น ไต้หวัน และ จีน (300

ฟอง/คน/ปี) (สำนักงานนโยบายและยุทธศาสตร์ทางการค้าสินค้าเกษตร, 2012) จุดที่น่าสนใจอีกประการหนึ่งที่จะทำให้ผู้บริโภคเชื่อมั่นว่าการกินไข่ไม่ส่งผลให้ระดับคอเลสเตอรอลในเลือดสูงขึ้นคือการเพิ่มระดับฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดง เนื่องจากมีงานวิจัยพบว่าฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงทำให้การดูดซึมคอเลสเตอรอลในทางเดินอาหารของหนูลดลง (Jiang et al., 2001) และยังช่วยส่งเสริมสุขภาพทางด้านอื่น เช่น ช่วยพัฒนาความทรงจำระยะสั้นและระยะยาวในหนูที่มีระดับสารสื่อประสาทที่ต่ำกว่าปกติ (Moriyama et al.,1996) นอกจากนั้นยังพบว่าฟอสฟาทิดิลโคลีนจากไข่แดงทำให้ระดับโคลีนในสมอง อะซิติลโคลีนซึ่งเป็นสารสื่อประสาทในสมอง และโคลีนในซีรั่มเพิ่มขึ้น ซึ่งช่วยลดปัจจัยเสี่ยงของการเกิดความผิดปกติในระบบประสาท โรคหัวใจ และมะเร็งเต้านมอีกด้วย (Magil et al., 1981; Zeisel and Costa, 2009) นอกจากคุณประโยชน์ทางด้านสุขภาพแล้วยังพบว่าฟอสฟาทิดิลโคลีนมีประโยชน์ทางด้านอื่น ๆ อีกมากมาย อาทิเช่น อุตสาหกรรมอาหารใช้ฟอสฟาทิดิลโคลีนเพื่อเป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ ส่งผลให้เนื้อผลิตภัณฑ์มีความเนียนนุ่มขึ้น (Cohn et al., 2010) อุตสาหกรรมยา และเครื่องสำอางนิยมสกัดฟอสฟาทิดิลโคลีนจากไข่แดงมาใช้เพิ่มประสิทธิภาพการขนส่งสารโดยการกักเก็บสารในรูปไลโปโซม (Jing et al., 2012) ดังนั้นการมีระดับฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงที่เพิ่มสูงขึ้นอาจจะกระตุ้นให้ประชาชนหันมาบริโภคไข่เพิ่มมากขึ้น ซึ่งจะช่วยลดภาวะไข่ไก่ล้นตลาด (สำนักงานนโยบายและยุทธศาสตร์ทางการค้าสินค้าเกษตร, 2012)

ในปัจจุบันฟอสฟาทิดิลโคลีนที่ใช้ทั่วไปทั้งในรูปอาหารเสริม และในอุตสาหกรรมต่าง ๆ ส่วนใหญ่สกัดมาจากถั่วเหลือง (Palacios and Wang, 2005) แต่จากงานวิจัยของ Jiang และคณะ (2001) พบว่าฟอสฟาทิดิลโคลีนที่สกัดจากไข่แดงมีประสิทธิภาพในการลดการดูดซึมคอเลสเตอรอลได้ดีกว่าฟอสฟาทิดิลโคลีนที่สกัดจากถั่วเหลือง นอกจากนั้นยังพบว่าฟอสฟาทิดิลโคลีนที่สกัดจากไข่แดงยังมีความคงทนต่อการเกิดออกซิเดชันมากกว่าฟอสฟาทิดิลโคลีนที่สกัดจากถั่วเหลือง (Palacios and Wang, 2005) ดังนั้นการเพิ่มขึ้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่จะเป็นประโยชน์อย่างมากต่อสุขภาพของผู้บริโภค และอุตสาหกรรมต่าง ๆ ดังที่กล่าวมาข้างต้น งานวิจัยในอดีตที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มปริมาณฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่พบว่ามีอยู่อย่างจำกัด การศึกษาเริ่มต้นขึ้นในปีคริสตศักราช 1988 โดย Tsiangbe และคณะพบว่า การเสริมโคลีนที่ระดับ 1,000 มก./กก.อาหาร ทำให้ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงเพิ่มขึ้นจาก 957±33 เป็น 1,116±33 มก./ไข่แดง 1 ฟอง เฉลี่ย 16.6 เปอร์เซ็นต์ (Tsiangbe et al., 1988) รวมถึงรายงานของ Rajalekshmy (2010) ได้มีการเสริมโคลีนร่วมกับกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 พบว่าการเสริมสารทั้งสามตัวร่วมกันมีผลส่งเสริมซึ่งกันโดย

การเสริมโคลีนที่ระดับ 1,000 กรดโฟลิคที่ระดับ 4 และวิตามินบี 12 ที่ระดับ 0.02 มก./กก. อาหารทำให้ฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงเพิ่มขึ้นจาก 1,111.8 ± 0.529 ถึง 1,433.5 ± 0.529 มก./ไข่แดง 1 ฟอง เฉลี่ย 28.9 เปอร์เซ็นต์แต่ยังไม่มีรายงานว่าการเสริมสารทั้ง 3 ตัวในระดับที่สูงขึ้นว่าจะช่วยเพิ่มฟอสฟาทิดิลโคลีนได้มากขึ้นหรือไม่

ด้วยเหตุนี้จึงมีแนวคิดที่จะศึกษาหาระดับโคลีนที่ให้ฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงสูงที่สุด จากนั้นนำระดับโคลีนที่ได้มาเสริมกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 เพื่อดูว่าจะสามารถช่วยเพิ่มความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงให้สูงขึ้นได้อีกหรือไม่ โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถภาพการผลิต และคุณภาพไข่

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ

1. เพื่อศึกษาปริมาณโคลีนที่ทำให้ฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงมีค่าสูงที่สุด
2. เพื่อศึกษาผลของการเสริมโคลีน กรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ต่อกลไกการสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีน
3. เพื่อศึกษาผลของโคลีน กรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ต่อสมรรถภาพการผลิต และคุณภาพไข่

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 2

เอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ฟอสฟาทิดิลโคลีน (Phosphatidylcholine)

ปีคริสตศักราช 1846 Theodore-Nicolas Gobley ได้ทำการตั้งชื่อฟอสฟาทิดิลโคลีนว่า เลซิติน ซึ่งมีรากศัพท์มาจากภาษากรีกว่า Lekithos ที่แปลว่าไข่แดง (Sourkes, 2004) ฟอสฟาทิดิลโคลีนจัดเป็นฟอสโฟลิปิดชนิดหนึ่งที่มีโครงสร้างประกอบด้วย กลีเซอรอล ทำพันธะเอสเทอร์กับกรดไขมัน 2 โมเลกุล และทำพันธะฟอสโฟไดเอสเทอร์กับหมู่ไฮดรอกซิลตำแหน่งที่ 3 ของโคลีน (Vance and Vance, 1996) ฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่พบเฉพาะในส่วนของไข่แดงเท่านั้น โดยไข่ขนาดมาตรฐานน้ำหนัก 60 กรัมมีลิปิดในไข่แดงประมาณ 6.18 กรัม ซึ่งประกอบด้วยฟอสโฟลิปิด 1.9 กรัม (Larbier and Leclercq, 1994) และมีฟอสฟาทิดิลโคลีนอยู่ประมาณ 73 เปอร์เซ็นต์ จากฟอสโฟลิปิดทั้งหมด หรือคิดเป็น 1.39 กรัมของฟอสโฟลิปิดในไข่แดง (Rhodes and Lea, 1955)

ประโยชน์ของฟอสฟาทิดิลโคลีน

ฟอสฟาทิดิลโคลีนพบว่ามีประโยชน์ทั้งในด้านของสุขภาพ และในอุตสาหกรรมต่าง ๆ Jiang และคณะ (2001) ได้ทำการศึกษาผลของฟอสฟาทิดิลโคลีนที่สกัดจากไข่แดงต่อการดูดซึมคอเลสเตอรอลในทางเดินอาหารของหนูโดยการต่อท่อให้ฟอสฟาทิดิลโคลีน และคอเลสเตอรอลรวมกันในรูปอิมัลชันที่ลำไส้เล็กโดยตรง ซึ่งปริมาณของฟอสฟาทิดิลโคลีนที่ให้เทียบเท่ากับมนุษย์บริโภค 7.9 กรัมต่อวัน จากการศึกษาพบว่าฟอสโฟทิดิลโคลีนที่สกัดจากไข่แดงมีคุณสมบัติในการลดการดูดซึมคอเลสเตอรอลในลำไส้ของหนูได้ ยิ่งไปกว่านั้นยังมีประสิทธิภาพในการลดการดูดซึมคอเลสเตอรอลได้ดีกว่าฟอสฟาทิดิลโคลีนที่สกัดจากถั่วเหลืองอีกด้วย ซึ่งความแตกต่างทางด้านประสิทธิภาพในการลดการดูดซึมคอเลสเตอรอลมาจากชนิดกรดไขมันที่แตกต่างกันของฟอสฟาทิดิลโคลีนจากแหล่งทั้งสอง เนื่องจากฟอสฟาทิดิลโคลีนจากไข่แดงมีกรดไขมันอิ่มตัวมากกว่าที่อาจจะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Phospholipase A2 ได้ดีกว่า ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวทำหน้าที่ย่อยฟอสฟาทิดิลโคลีนที่จะต้องมีก่อนการดูดซึมคอเลสเตอรอล สำหรับประโยชน์ทางด้านสุขภาพด้านอื่น ๆ Moriyama และคณะ (1996) รายงานว่า การเสริมฟอสฟาทิดิลโคลีนที่สกัดจากไข่แดง

2 เปอร์เซ็นต์ในอาหารของหนูที่มีระดับสารสื่อประสาทต่ำกว่าปกติ สามารถช่วยพัฒนาความจำทั้งในระยะสั้นและระยะยาวโดยประสิทธิภาพจะดีขึ้นหากเสริมตั้งแต่ในระยะตั้งท้อง แต่การเสริมในระดับที่มากเกินถึง 8 เปอร์เซ็นต์กลับไม่พบประโยชน์ดังกล่าว Magil และคณะ (1981) ยังพบว่า การเสริมฟอสฟาทิดิลโคลีนที่สกัดจากไข่แดง 20 เปอร์เซ็นต์ในอาหารของหนูทำให้ระดับอะซิติลโคลีนซึ่งเป็นสารสื่อประสาทในสมอง และระดับโคลีนในสมองเพิ่มขึ้น นอกจากนั้นยังทำให้ระดับโคลีนในซีรั่มเพิ่มขึ้นอีกด้วย ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการลดปัจจัยเสี่ยงในการเกิดความผิดปกติของระบบประสาท โรคหัวใจ และมะเร็งเต้านม (Zeisel and Costa, 2009) สำหรับประโยชน์ของฟอสฟาทิดิลโคลีนด้านอื่นๆ พบว่ามีการสกัดฟอสฟาทิดิลโคลีนมาใช้ในอุตสาหกรรม ต่าง ๆ มากมายทั้งอุตสาหกรรมอาหาร ยา และเครื่องสำอาง อาทิเช่น การผลิตขนมเค้ก ช็อกโกแลต และมายองเนส มีการใช้ฟอสฟาทิดิลโคลีนในการเป็นสารอิมัลซิไฟเออร์เพิ่มคุณสมบัติในการจับตัวกันระหว่างน้ำ และไขมัน ส่งผลให้เนื้อผลิตภัณฑ์มีความเนียนนุ่มขึ้น (Cohn et al., 2010) อุตสาหกรรมยา และเครื่องสำอางนิยมนำฟอสฟาทิดิลโคลีนมาใช้เพิ่มประสิทธิภาพการขนส่งสารเข้าสู่เซลล์โดยการกักเก็บสารในรูปไลโปโซม (Jing et al., 2012)

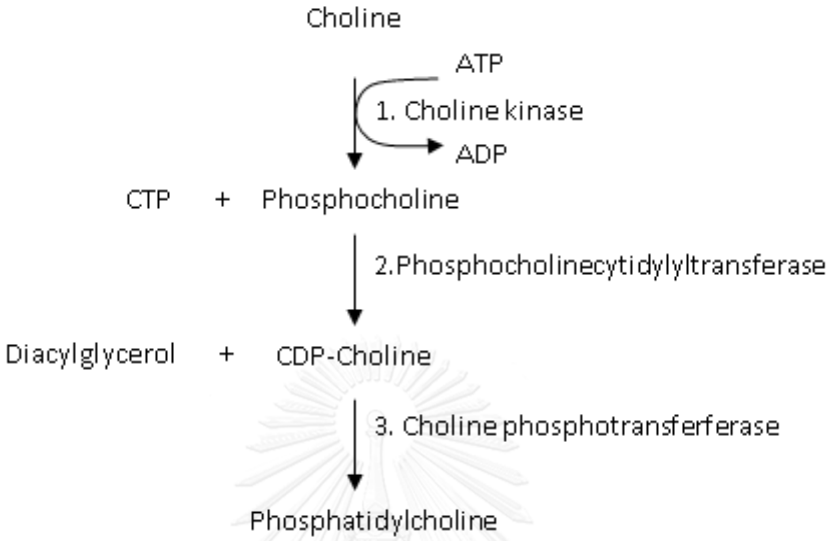
กระบวนการสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีน

การสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีนเกิดขึ้นภายในเซลล์ตับบริเวณเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม (Walzem et al., 1999; Cole et al., 2012) โดยมีกระบวนการสังเคราะห์ผ่าน 2 กลไกหลัก คือ 1. CDP-choline pathway 2. Phosphatidylethanolamine*N*-methyltransferase pathway (PEMT pathway) (Wurtman et al., 2007; Gibellini and Smith, 2010; Cole et al., 2012)

1. การสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีนผ่าน CDP-choline Pathway

การสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีนผ่านกลไกนี้ ต้องการโคลีนเป็นสารตั้งต้นร่วมกับการทำงานของเอนไซม์ 3 ชนิด คือ 1. เอนไซม์ Choline kinase (CK) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาในการเติมหมู่ฟอสเฟตให้โคลีนโดยใช้ ATP 1 โมเลกุล ได้เป็น phosphocholine นอกจากนี้ phosphocholine ยังได้มาจากการสลายสฟิงโกไมอีลิน (sphingomyelin) โดยเอนไซม์ lysosomalsphingomyelinase ด้วย 2. เอนไซม์ Phosphocholinecytidylyltransferase (CCT) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการจับกันระหว่าง phosphocholine และ cytidine triphosphate ซึ่งเป็นนิวคลีโอไทด์ที่พบโดยทั่วไปในเซลล์ (Wurtman et al., 2007) ให้กลายเป็น CDP-choline และ pyrophosphate 3. เอนไซม์ Choline phosphotransferase (CPT) ทำหน้าที่

เร่งปฏิกิริยาการย้าย phosphocholine จาก CDP-choline ไปจับกับ diacylglycerol เพื่อให้ได้เป็นฟอสฟาทิดิลโคลีน (Fagone and Jackowski, 2013) โดยมีกระบวนการสังเคราะห์ดังภาพที่ 1



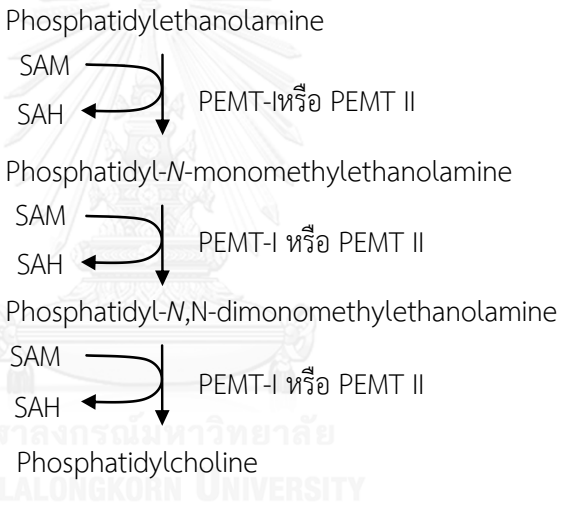
ภาพที่ 1 การสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีนผ่าน CDP-choline pathway (CTP = Cytidine triphosphate; CDP-Choline = Cytidine-5'-diphosphate choline)

2. การสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีนผ่าน PEMT pathway

การสังเคราะห์ผ่านกลไกนี้เป็นการเปลี่ยนฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนที่อยู่ในตับให้เป็นฟอสฟาทิดิลโคลีน ซึ่งฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนภายในเซลล์นั้นได้มาจากการสังเคราะห์ผ่าน 2 กลไกที่สำคัญคือการเปลี่ยนฟอสฟาทิดิลเซอรีนเป็นฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนโดยเอนไซม์ภายในไมโทคอนเดรียที่มีชื่อว่า phosphatidylserine decarboxylase และการสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนผ่าน CDP-ethanolamine pathway ที่เกิดขึ้นภายในเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม และเยื่อหุ้มนิวเคลียสโดยใช้เอทาโนลามีนเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ (Vance, 2008) การเปลี่ยนฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนให้เป็นฟอสฟาทิดิลโคลีนผ่าน PEMT pathway เป็นการนำหมู่เมทิลจาก S-adenosylmethionine มาเติมอย่างเป็นลำดับขั้นให้กับฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนจนได้เป็นฟอสฟาทิดิลโคลีน (Larbier and Leclercq, 1994; Gibellini and Smith, 2010) ปฏิกิริยาดังกล่าวอาศัยเอนไซม์ 2 ชนิด คือ 1. phosphatidylethanolamine-N-methyltransferase (PEMT-I) และ/หรือ 2.phosphatidyl-N-methylethanolamine-N-methyltransferase (PEMT-II) (Larbier and Leclercq, 1994;

Wurtman et al., 2007) ดังภาพที่ 2 สำหรับในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เอนไซม์ PEMT เพียงชนิดเดียวสามารถเร่งปฏิกิริยาการเติมหมู่เมทิลได้ทั้ง 3 ขั้นตอนและปฏิกิริยาดังกล่าวเกิดขึ้นโดยทั่วไปประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ของฟอสฟาทิดิลโคลีนที่สังเคราะห์ขึ้นภายในตับ (Gibellini and Smith, 2010)

ในไก่ไข่ Tsiagbe และคณะ (1988) พบว่าการเสริมโคลีนในอาหารทำให้การสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีนจากฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในตับเพิ่มขึ้นโดยประเมินจากปริมาณฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่ที่เพิ่มขึ้น และการลดลงของฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในไข่ สอดคล้องกับการศึกษาของ Rajalekshmy (2010) พบว่าการเสริมโคลีนร่วมกับกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 สามารถส่งเสริมการทำงานซึ่งกันและกันในการเพิ่มการสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีนจากฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีน แต่ยังไม่มีการศึกษาใดบ่งชี้ว่าการสังเคราะห์ผ่านปฏิกิริยาดังกล่าวที่เกิดขึ้นในสัตว์ปีกเป็นจำนวนเท่าใดจากฟอสฟาทิดิลโคลีนที่สังเคราะห์ทั้งหมด



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาพที่ 2 การเติมหมู่เมทิลแบบเป็นลำดับขั้นให้กับเอทาโนลามีน (SAM = S-adenosylmethionine และ SAH =S-adenosylhomocysteine)

กระบวนการขนส่งฟอสฟาทิดิลโคลีน และฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนเข้าสู่ไข่แดง

การสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีน และฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนเกิดขึ้นในตับ (Vance, 2008; Cole et al., 2012) และมีการส่งผ่านทางกระแสเลือดเพื่อสะสมในไข่แดง เนื่องจากรังไข่ไม่สามารถสังเคราะห์สารที่เป็นองค์ประกอบในไข่แดงได้ (Larbier and Leclercq, 1994) สำหรับไก่ในช่วงให้ไข่พบว่ากระบวนการสังเคราะห์ลิปิดชนิดต่างๆ รวมถึงฟอสฟาทิดิลโคลีนจะถูกกระตุ้นให้มีการสังเคราะห์เพิ่มมากขึ้นโดยอิทธิพลจากฮอร์โมนเอสโตรเจนหลังจากกระบวนการสังเคราะห์

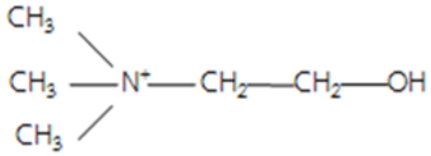
เสร็จสิ้น ลิปิดและฟอสโฟลิปิดจะถูกหลั่งออกจากตับผ่านกระแสเลือดเข้าสู่ไข่แดงในรูปของไลโปโปรตีนชนิดที่มีความหนาแน่นต่ำมาก (VLDLy) และไวเทลโลจีนิน (vitellogenin) สำหรับ VLDLy จะมีความแตกต่างจาก VLDL ปกติ คือมีขนาดเพียงครึ่งหนึ่งของ VLDL ปกติ และมีอะโปโปรตีนชนิด VLDL-II ในอัตราที่สูง ซึ่งทำหน้าที่ในการยับยั้งการทำงานของไลโปโปรตีนไลเปส (lipoprotein lipase) ที่ไฮโดรไลซิสไลโปโปรตีนเพื่อให้กรดไขมันกับเซลล์เนื้อเยื่อต่างๆ ดังนั้น VLDLy จึงมีประสิทธิภาพสูงในการเข้าสู่ฟอลลิเคิลของรังไข่ (Hermier et al., 1989; Walzem et al., 1999)

VLDLy และไวเทลโลจีนินถูกส่งมาตามกระแสเลือดเข้าสู่รังไข่โดยผ่านชั้นเบซัล ลามินา (basal lamina) ของฟอลลิเคิลในรังไข่ซึ่งชั้นนี้จะมีกลไกการคัดกรองสารต่าง ๆ ที่จะเข้าสู่ไข่แดง หลังจากนั้นจึงผ่านเข้าช่องว่างระหว่างเซลล์ของเซลล์แกรนูโลซา (granulosa cell) และเข้าสู่เยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์ไข่ในที่สุด (Walzem et al., 1999) เมื่อมาถึงเยื่อหุ้มเซลล์ไข่ VLDLy และไวเทลโลจีนินจะเชื่อมเข้าหากันและถูกลำเลียงเข้าสู่เซลล์โดยจับกับ receptor ที่มีชื่อว่า LR8 (Schneider and Nimpf, 2003) และLRP 380 (Elkin, 2006) จากโครงสร้างฟอลลิเคิลที่มีความพิเศษรวมถึงขนาดของ VLDLy และไวเทลโลจีนินที่มีความเหมาะสมจึงทำให้ลิปิดที่สังเคราะห์ขึ้นจากตับเท่านั้นสามารถเข้าสู่ไข่แดงได้ (Alvarenga et al., 2011)

โคลีน (Choline)

1. ลักษณะและโครงสร้างของโคลีน

โคลีนหรือชื่อทางเคมีว่า 2-hydroxyethyl-trimethyl-ammonium (Wurtman et al., 2007) เป็นสารอินทรีย์ที่จัดอยู่ในกลุ่มของวิตามินบีรวม มีคุณสมบัติละลายในน้ำ ฟอร์มัลดีไฮด์ และแอลกอฮอล์ได้ มีลักษณะทางกายภาพคือ เป็นผลึกแข็ง ไม่มีสี มีความเป็นด่าง และดูดความชื้น (McDowell, 2000) โดยโคลีนที่มีการใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์จะใช้ในรูปโคลีนคลอไรด์ซึ่งพบว่ามีโคลีนอยู่ที่ระดับ 87 เปอร์เซ็นต์ (Ammerman et al., 1995) โคลีนเป็นสารที่มีความโดดเด่นคือมีหมู่เมทิล 3 ตัวอยู่ในโครงสร้างดังภาพที่ 3 จึงทำหน้าที่สำคัญคือเป็นตัวให้หมู่เมทิล (methyl donor) แก่สารอื่นๆในร่างกาย (McDowell, 2000; Wurtman et al., 2007) นอกจากนั้นยังมีความสำคัญด้านอื่นๆ เช่น เป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์โดยอยู่ในรูปฟอสฟาทิดิลโคลีน และเป็นองค์ประกอบของสารสื่อประสาทโดยอยู่ในรูปของอะซีติลโคลีน (Ammerman et al., 1995) ดังนั้นในสิ่งมีชีวิตจึงมีความต้องการโคลีนเป็นจำนวนมาก (Wurtman et al., 2007)



ภาพที่ 3 โครงสร้างโคลีน

2. กระบวนการดูดซึม และขนส่งโคลีนในร่างกาย

การดูดซึมโคลีนเกิดขึ้นที่ลำไส้เล็กส่วนเจจูนัม และอีเลียมเป็นหลัก โดยอาศัยพลังงานและโปรตีนในการนำเข้าสู่เซลล์ (McDowell, 2000) ในสัตว์ปีกการขนส่งโคลีนหลังจากดูดซึมจะมีการขนส่งที่แตกต่างจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเนื่องจาก ระบบน้ำเหลืองในสัตว์ปีกพัฒนาไม่เต็มที่ ดังนั้นโคลีนที่ผ่านกระบวนการดูดซึมจะถูกขนส่งเข้าสู่เส้นเลือดดำในตับโดยตรงในรูปฟอสฟาทิดิลโคลีนที่จับอยู่กับลิปิดและโปรตีนเรียกว่า พอโทไมครอน (portomicrons) ที่มีลักษณะคล้ายกับไคโลไมครอน (chylomicrons) ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Alvarenga et al., 2011)

เมื่อฟอสฟาทิดิลโคลีนเข้าสู่เซลล์ตับจะมีเอนไซม์ phospholipase ที่เยื่อหุ้มเซลล์ทำหน้าที่ปลดปล่อยโคลีนออกจากฟอสฟาทิดิลโคลีน (Wurtman, 2007) และนำโคลีนเข้าสู่เซลล์โดยอาศัยตัวขนส่ง 3 ชนิดคือ คือ 1. Organic cation transporter 2. High-affinity choline transporter และ 3. Choline transporter-like proteins (Fagone and Jackowski, 2013) หลังจากโคลีนถูกส่งเข้าสู่เซลล์ โคลีนจะถูกนำไปใช้ในการสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีนผ่านกลไก CDP choline pathway หรือถูกเปลี่ยนเป็นบีเทนต่อไป สำหรับหน้าที่ของบีเทน Lever และ Slow (2010) ได้รายงานว่าบีเทนมีความสำคัญหลัก ๆ อยู่ 2 ประการ คือ ช่วยรักษาสมดุลปริมาตรของเซลล์ในไต และเป็นตัวให้หมู่เมทิลเพื่อเปลี่ยนโฮโมซิสเตอีนเป็นกรดแอมิโนเมทไธโอนีนในตับ ที่จำเป็นในกระบวนการสังเคราะห์ S-adenosylmethionine ต่อไป ซึ่ง S-adenosylmethionine ที่เกิดขึ้นยังสามารถทำหน้าที่ในการเติมหมู่เมทิลในหลายปฏิกิริยารวมถึงการเติมหมู่เมทิลให้กับฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในการสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีนอีกด้วย (Mcdowell, 2000; Wurtman, 2007) อย่างไรก็ตามกระบวนการเปลี่ยนโคลีนเป็นบีเทนจะพบได้เฉพาะในไมโทคอนเดรียของเซลล์ตับ และไตเท่านั้น (Gibellini and Smith, 2010) เนื่องจากเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องพบเฉพาะในเซลล์ดังกล่าว (Wurtman, 2007)

การขับโคลีนส่วนเกินในไก่ไข่ ที่ได้เสริมโคลีนในอาหารในรูปโคลีนคลอไรด์ ไม่พบการสะสมโคลีนส่วนเกินในไต มูล และซาก ซึ่งโคลีนในอาหารอาจถูกขับทางอื่นเช่น การนำไปสร้างเป็นกรดแอมิโนเมทไธโอนีน การสร้างเป็นฟอสฟาทิดิลโคลีนส่งผ่านทางไข่ หรือ ส่งไปยังเนื้อเยื่อสมองเพื่อ

นำไปสังเคราะห์เป็น สฟิงโกไมอีลิน ฯลฯ และอาจเป็นไปได้ที่โคลีนบางส่วนจะถูกย่อยโดยจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร (Crawford et al., 1968a, b)

3. ความต้องการโคลีนในสัตว์ปีก

ในสิ่งมีชีวิตเกือบทุกชนิดพบว่าสามารถสังเคราะห์โคลีนเองได้ แต่ในหลายกรณีอาจพบว่ามีการสังเคราะห์ที่ไม่เพียงพออันเนื่องมาจาก ระดับกรดแอมิโนเมทไธโอนีน วิตามินบี 12 หรือกรดโฟลิคซึ่งมีความสำคัญในการสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีน และการให้หมู่เมทิลในปฏิกิริยาต่าง ๆ ในอาหารมีไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย ซึ่งสามารถพบภาวะขาดโคลีนได้ในสัตว์ปีกอายุไม่เกิน 8 สัปดาห์ สุนัข แมว ลิง สุกร และกระต่าย ดังนั้นสัตว์เหล่านี้จึงต้องมีการเสริมโคลีนสังเคราะห์ในอาหาร (McDowell, 2000) Larbier และ Leclercq (1994) รายงานความสำคัญของโคลีนในสัตว์ปีกว่าโคลีนเป็นองค์ประกอบของอะซีติลโคลีนซึ่งเป็นสารสื่อประสาท เป็นองค์ประกอบของฟอสฟาทิดิลโคลีนและสฟิงโกไมอีลิน และเป็นสารที่ให้หมู่เมทิลในการสังเคราะห์กรดแอมิโนเมทไธโอนีน สำหรับความต้องการโคลีนในไก่ที่ให้ไข่เปลือกสีน้ำตาล NRC (1994) แนะนำระดับต่ำสุดไว้ที่ 105 มก./วันสำหรับไก่ที่มีการกินได้ 110 กรัม/วันในขณะที่ไก่สายพันธุ์ทางการค้า เช่นพันธุ์ ISA Brown แนะนำไว้ที่ 160 มก./วัน สำหรับไก่ที่มีการกินได้ 118 กรัม/วัน (A Hendrix Genetics Company, 2009-10)

4. ความเป็นพิษของโคลีน

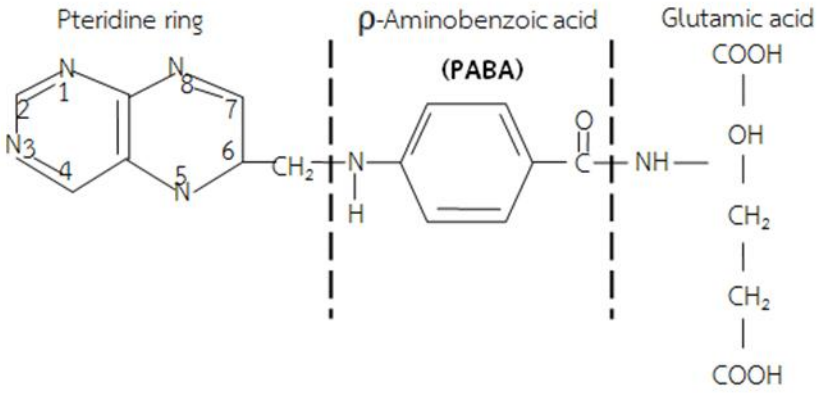
การศึกษาความเป็นพิษของการได้รับโคลีนในปริมาณที่สูงในสัตว์ทดลอง พบว่า สัตว์ทดลองจะมีอาการ คือ มีการหลั่งน้ำลายมากขึ้น กล้ามเนื้อกระตุก ตัวสั่น ชัก ผิวหนังมีสีเขียวคล้ำ และหายใจลำบาก โดยระดับโคลีนในรูปโคลีนคลอไรด์ที่ทำให้หนูทดลองตายครึ่งหนึ่ง (LD_{50}) มีค่าอยู่ในช่วง 3.4-6.7 ก./กก.อาหาร (McDowell, 2000)

กรดโฟลิค (Folic acid)

1. ลักษณะ และโครงสร้างของกรดโฟลิค

กรดโฟลิค (folic acid) หรือ วิตามินบี 9 (European Food Safety Authority, 2012) จัดเป็นสารที่สามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตต่างๆ มีลักษณะเป็นผลึกสีส้มอมเหลือง ไม่มีรสชาติ ไม่มีกลิ่น และไม่ละลายในแอลกอฮอล์ อีเทอร์ และสารอินทรีย์อื่นๆ มีความคงทนต่ออากาศ ความร้อน สารละลายที่เป็นกลางและด่างพอสมควร แต่ไม่คงทนในสารละลายที่เป็นกรด กรดโฟลิค มีชื่อเรียกแตกต่างกันไปคือโฟเลทหรือโฟลาซิน และมีชื่อทางเคมีว่า pteroylglutamic acid (McDowell,

2000) เป็นสารเคมีที่มีโครงสร้างประกอบด้วย 1. เทอริดีน (pteridine ring) 2. กรดพารา-แอมิโนเบนโซอิก (para-aminobenzoic acid) และ 3. กรดกลูตามิค (ภาพที่ 4) (Ammerman et al., 1995) กรดโฟลิคที่พบในอาหารสัตว์จะอยู่ในรูปที่เชื่อมต่อกับกลูตามิคหลายโมเลกุล (Polyglutamate form) แต่กรดโฟลิคที่อยู่ในรูปสังเคราะห์จะเชื่อมต่อกับกรดกลูตามิกเพียงโมเลกุลเดียว (Monoglutamate form) และอยู่ในรูปที่ไม่ถูกรีดิวซ์ (McDowell, 2000)



ภาพที่ 4 Pteroylglutamic acid

2. กระบวนการดูดซึม และขนส่งกรดโฟลิคในร่างกาย

การดูดซึมกรดโฟลิคเกิดขึ้นที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัม และเจจูนัมเป็นหลัก (Tactacan et al., 2011) โดยอาศัยพลังงาน และโปรตีนในการนำเข้าสู่เซลล์ (สมปอง, 2004; Tactacan et al., 2011) นอกจากนั้นยังมีกรดโฟลิคที่แพร่ผ่านแบบธรรมดาประมาณ 20-30 เปอร์เซ็นต์ของกรดโฟลิคที่มีการดูดซึมทั้งหมด (McDowell, 2000) ซึ่งในเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็กจะมีกระบวนการรีดิวซ์กรดโฟลิคให้อยู่ในรูป tetrahydrofolic acid และเติมหมู่เมทิลที่ไนโตรเจนตำแหน่งที่ 5 จนได้เป็น 5-methyltetrahydrofolic acid (Ammerman et al., 1995) ส่งเข้ากระแสเลือดไปยังเซลล์ของเนื้อเยื่อต่างๆ ภายในเซลล์จะมีกระบวนการสังเคราะห์กรดโฟลิคในรูปที่เชื่อมต่อกับกรดกลูตามิกสายยาว (Polyglutamate form) โดยเอนไซม์ folatepolyglutamate synthethase เนื่องจากเซลล์เก็บกรดโฟลิคในรูปเชื่อมต่อกับกลูตามิคหลายโมเลกุลเท่านั้น โดยเอนไซม์ดังกล่าวจะใช้ tetrahydrofolic acid เป็นสารตั้งต้นดังนั้นจึงต้องมีกระบวนการเปลี่ยน 5-methyltetrahydrofolic acid ให้เป็น tetrahydrofolic acid เสียก่อน (Brody, 1994 อ้างโดย สมปอง, 2004) ซึ่งกรดโฟลิคในรูป tetrahydrofolic acid นั้นมีความสำคัญในการให้คาร์บอนอะตอมในปฏิกิริยาต่าง ๆ ซึ่งคาร์บอนอะตอมสามารถอยู่ในรูปกลุ่ม formyl, formimino, methylene, หรือ

methyl โดยให้คาร์บอนอะตอมในการสังเคราะห์สารต่าง ๆ อาทิ ลิปิด โปรตีน กรดนิวคลีอิค ฮอร์โมน และสารสื่อประสาท (McDowell, 2000)

การขับกรดโฟลิคส่วนเกินมีปริมาณเพียงเล็กน้อยเท่านั้น โดยส่วนใหญ่จะถูกขับออกทางมูล ที่เหลือถูกขับออกทางปัสสาวะ ในบางกรณีอาจพบการขับถ่ายออกทางมูลมีปริมาณที่สูงกว่าการรับเข้าไป ทั้งนี้เนื่องจากการสังเคราะห์กรดโฟลิคจากแบคทีเรียในบริเวณทางเดินอาหารมีเพิ่มขึ้น (McDowell, 2000)

3. ความต้องการกรดโฟลิคในสัตว์ปีก

ความต้องการโฟลิคในสัตว์แต่ละชนิดแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับการสังเคราะห์ของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร และการใช้ประโยชน์ได้ในสัตว์ นอกจากนั้นความต้องการกรดโฟลิคยังพบว่ามีความสัมพันธ์กับปัจจัยอื่นๆอาทิเช่น สัตว์จะมีความต้องการเพิ่มขึ้นเมื่อเกิดภาวะขาดโคลีน หรือวิตามินบี 12 นอกจากนั้นสัตว์ที่อยู่ในระยะให้ผลผลิต หรือกำลังเจริญเติบโตพบว่ามีความต้องการกรดโฟลิคสูงขึ้น (McDowell, 2000) กรดโฟลิคในสัตว์ปีกมีความสำคัญอาทิเช่น การสลายฮิสทิดีน การสังเคราะห์เซอรีนจากไกลซีนการสังเคราะห์เบสพิวรีนและไพริมิดีน และการสังเคราะห์กรดแอมิโนเมทไธโอนีนจากโฮโมซิสเตอีน (Larbier and Leclercq, 1994) เนื่องจากสามารถสังเคราะห์ผ่านการเติมหมู่เมทิลจากโฟลิคโดยอาศัยการทำงานของวิตามินบี 12 ร่วมกับเอนไซม์ methionine synthase (MS) ได้ (Wurtman et al., 2007) การสังเคราะห์กรดแอมิโนเมทไธโอนีนจากกรดโฟลิคเริ่มต้นโดยการเติมหมู่เมทิลจากกรดแอมิโนซีรีนให้กับ tetrahydrofolic acid และกลายเป็น 5,10-methylenetetrahydrofolic acid ที่ในภายหลังลดเหลือเป็น 5-methyltetrahydrofolic acid ซึ่งทำหน้าที่ในการเติมหมู่เมทิลให้กับโฮโมซิสเตอีน และได้กรดแอมิโนเมทไธโอนีนที่จำเป็นในกระบวนการสังเคราะห์ S-adenosylmethionine ต่อไป ซึ่ง S-adenosylmethionine ที่เกิดขึ้นยังสามารถทำหน้าที่ในการเติมหมู่เมทิลในหลายปฏิกิริยา รวมถึงการเติมหมู่เมทิลให้กับฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในการสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีนอีกด้วย (Mcdowell, 2000; Wurtman, 2007) ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่ไข่ การเสริมกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 จะเป็นในลักษณะการเสริมเพื่อรักษาระดับการเจริญเติบโตและผลผลิตให้เป็นปกติเท่านั้น คืออยู่ที่ 0.5 และ 0.01 มก./กก.อาหารตามลำดับ (สมปอง, 2004) สำหรับความต้องการกรดโฟลิคในไก่ที่ให้ไข่เปลือกสีน้ำตาล NRC (1994) แนะนำระดับต่ำสุดไว้ที่ 0.04 มก./วันสำหรับไก่ที่มีการกินได้ 110 กรัม/วันในขณะที่ไก่สายพันธุ์ทางการค้าเช่นพันธุ์ ISA Brown แนะนำไว้ที่ 0.09 มก./วัน สำหรับไก่ที่มีการกินได้ 118 กรัม/วัน (A Hendrix Genetics Company, 2009-10)

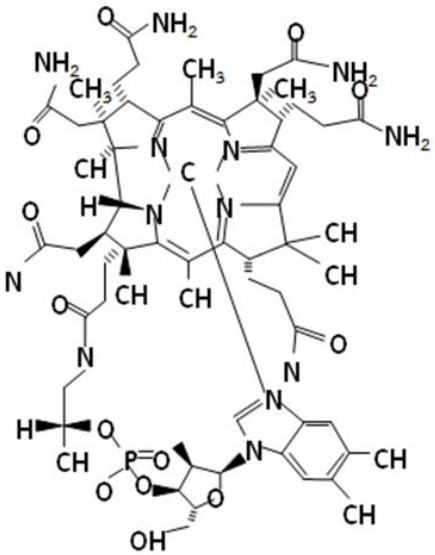
4. ความเป็นพิษของกรดโฟลิค

กรดโฟลิคจัดเป็นวิตามินที่มีความเป็นพิษต่ำในสัตว์ปีก โดยสัตว์ปีกสามารถทนต่อระดับกรดโฟลิคที่มากกว่าระดับที่ให้ปกติถึงห้าพันเท่า สำหรับภาวะที่เป็นพิษคือจะพบว่าไตมีการขยายขนาดใหญ่ผิดปกติ (Leeson and Summers, 2001) และในสัตว์ทดลองพบว่าปริมาณที่ฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำและทำให้สัตว์ทดลองตายครึ่งหนึ่ง (LD_{50}) ในหนูไมซ์เท่ากับ 600 มก. หนูแรทเท่ากับ 500 มก. กระต่ายเท่ากับ 410 มก. และหนูตะเภาเท่ากับ 120 มก./กก.ของน้ำหนักตัว (McDowell, 2000)

วิตามินบี 12 (Vitamin B_{12})

1. ลักษณะ และโครงสร้างของวิตามินบี 12

วิตามินบี 12 จัดเป็นวิตามินที่ละลายในน้ำและแอลกอฮอล์ แต่ไม่ละลายในอะซีโตน คลอโรฟอร์ม และอีเทอร์ มีลักษณะเป็นผลึกสีแดงคล้ำ มีคุณสมบัติดูดความชื้น มีโครงสร้างที่ซับซ้อน (ภาพที่ 5) โดยสูตรทางเคมีคือ $C_{63}H_{88}O_{14}N_{14}PCo$ ภายในโครงสร้างของวิตามินบี 12 มีโคบอลต์เป็นองค์ประกอบอยู่ 4.5 เปอร์เซ็นต์ และมีน้ำหนักโมเลกุลมากที่สุดในวิตามินทั้งหมด โดยหนัก 1,354 กรัม/โมล (McDowell, 2000) นอกจากนั้นวิตามินบี 12 ยังสามารถพบในรูปแบบอื่นได้ เช่น hydroxycobalamin, adenosylcobalamin และ methylcobalamin (Heudi et al., 2006)



ภาพที่ 5 โครงสร้างของวิตามินบี 12

2.กระบวนการดูดซึม และขนส่งวิตามินบี 12 ในร่างกาย

เมื่อวิตามินบี 12 เข้าสู่กระเพาะอาหาร ในสภาวะที่เป็นกรดของกระเพาะอาหารทำให้วิตามินบี 12 จับกับ Cobalophilin ซึ่งเป็น noninstrinsic protein ที่ถูกหลั่งมาพร้อมกับน้ำลายมากกว่าจับกับ instrinsic factor โดยตรง สำหรับ instrinsic factor คือ ไกลโคโปรตีนที่สังเคราะห์และหลั่งจากพาเรียทัลเซลล์ในกระเพาะอาหาร หลังจากนั้นเมื่อเข้าสู่ลำไส้เล็ก น้ำย่อยจากตับอ่อนจะเข้ามาย่อย Cobalophilin และเกิดการปลดปล่อยวิตามินบี 12 ให้ไปจับกับ instrinsic factor ได้เป็น instrinsic factor-B_{12} complex ก่อนที่จะมีการดูดซึมเข้าสู่ลำไส้เล็กส่วนอีเลียม (McDowell, 2000)

การขนส่งวิตามินบี 12 เข้าสู่เซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็กจะมีการขนส่งผ่านโปรตีนตัวรับ โดย instrinsic factor-B_{12} complex จะจับกับโปรตีนตัวรับที่มีความจำเพาะที่อยู่บริเวณเยื่อบุผิวของไมโครวิลไล ในกรณีทั่วไปพบว่ามีกลไกการขนส่งวิตามินบี 12 เข้าสู่เซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็กแบบแพร่ผ่านธรรมดาร่วมด้วย แต่พบว่ามีเพียงประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น อย่างไรก็ตามกระบวนการแพร่ผ่านจะมีความสำคัญมากขึ้นเมื่อร่างกายได้รับวิตามินบี 12 ในปริมาณที่มาก และหลังจากดูดซึมวิตามินบี 12 จะถูกส่งเข้าสู่เส้นเลือดดำเพื่อเข้าสู่ตับต่อไป (McDowell, 2000) ในสัตว์ปีกพบว่าที่ตับวิตามินบี 12 จะจับกับโปรตีนขนส่งที่มีความจำเพาะ คือ transcobalamins II (Leeson and Summers, 2001) ที่ทำหน้าที่ในการขนส่งวิตามินบี 12 ในกระแสเลือด (McDowell, 2000)

เมื่อวิตามินบี 12 ดูดซึมเข้าสู่เซลล์จะมีกระบวนการเปลี่ยนรูปให้อยู่ในรูปโคเอนไซม์ โดยหลัก ๆ จะเกิดขึ้นที่ตับ และไต สำหรับในสัตว์พบโคเอนไซม์ 2 รูปหลักๆ คือ methylcobalamin ซึ่งทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ให้กับเอนไซม์ methyltransferase ในการสังเคราะห์หรือย้ายหมู่เมทิลในสารต่าง ๆ และรูป adenosylcobalamin ทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ให้กับเอนไซม์ mutase ในการเคลื่อนย้ายไฮโดรเจนอะตอมของสารตัวกลางในปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมทาบอลิซึม (McDowell, 2000)

ความสัมพันธ์ของกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 พบว่ามีอยู่ 2 ข้อคือ 1. วิตามินบี 12 ทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ของเอนไซม์ methyltransferase ช่วยในการส่งผ่านหมู่เมทิลจากกรดโฟลิคให้กับโฮโมซิสเตอีนและได้กรดแอมิโนเมทไธโอนีนที่จำเป็นในกระบวนการสังเคราะห์ S-adenosylmethionine ต่อไป ซึ่ง adenosylmethionine ที่เกิดขึ้นยังสามารถทำหน้าที่ในการเติมหมู่เมทิลในหลายปฏิกิริยารวมถึงการเติมหมู่เมทิลให้กับฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในการสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีนอีกด้วย (Mcdowell, 2000; Wurtman, 2007) และ2. มีความสำคัญต่อการส่งกรดโฟลิคผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ และการสะสมกรดโฟลิคภายในเซลล์ (Ammerman et al., 1995)

เส้นทางหลักของการขับวิตามินบี 12 คือทางมูล และมีการขับในปริมาณเล็กน้อยที่ปัสสาวะ นอกจากนั้นอีกเส้นทางหนึ่งคือการขับออกทางน้ำดีแต่จะมีการดูดซึมกลับที่บริเวณอีเลียมประมาณ 65-75 เปอร์เซ็นต์ (McDowell, 2000)

3.ความต้องการวิตามินบี 12 ในสัตว์ปีก

ความต้องการวิตามินบี 12 ในสัตว์ปีกพบว่ามีความต้องการเพียงปริมาณเล็กน้อยเท่านั้น ขึ้นอยู่กับระดับสารอาหารต่างๆ เช่น โคลีน เมทไธโอนีน และกรดโฟลิคในอาหาร (Leeson and Summers, 2001) โดยในสัตว์ปีกจะได้รับวิตามินบี 12 มาจากสองทางคือ จากวัตถุดิบอาหารสัตว์ และการสังเคราะห์ขึ้นจากจุลินทรีย์บริเวณทางเดินอาหาร (NRC, 1994) อย่างไรก็ตามจำนวนที่แน่นอนของวิตามินบี 12 ที่ผลิตขึ้นจากจุลินทรีย์ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด สำหรับความต้องการวิตามินบี 12 ในไก่ที่ให้ไข่เปลือกสีน้ำตาล NRC (1994) แนะนำระดับต่ำสุดไว้ที่ 0.008 มก./วันสำหรับไก่ที่มีการกินได้ 110 กรัม/วันในขณะที่ไก่สายพันธุ์ทางการค้าเช่นพันธุ์ ISA Brown แนะนำไว้ที่ 0.002 มก./วัน สำหรับไก่ที่มีการกินได้ 118 กรัม/วัน (A Hendrix Genetics Company, 2009-10)

4. ความเป็นพิษ

จากการค้นคว้าเอกสารไม่พบรายงานระดับที่เป็นอันตรายแก่สัตว์ แต่ความเป็นพิษอาจเกิดขึ้นได้จากการรับโคบอลต์ที่มากเกินไป ซึ่งอาการที่แสดงถึงภาวะความเป็นพิษที่เกิดขึ้นจากโคบอลต์คือ ปริมาณเม็ดเลือดแดงสูงกว่าปกติ หลั่งปัสสาวะ อุจจาระ น้ำลายเพิ่มขึ้น และหายใจถี่ขึ้น (McDowell, 2000)

ผลของโคลีนต่อสมรรถภาพการผลิต และคุณภาพไข่

การศึกษาผลของโคลีนในไก่ไข่ พบว่ามีการศึกษามาเป็นเวลานาน และมีผู้วิจัยจำนวนมากที่ให้ความสำคัญในเรื่องของการเสริมโคลีน Crawford และคณะ (1968a) ได้ทำการประเมินความเข้มข้นของโคลีนในอาหารที่ระดับ 595 ถึง 5,729 มก./ กก.อาหารโดยเสริมในรูปโคลีนคลอไรด์ และพบว่าความเข้มข้นของโคลีนในอาหารที่ระดับสูงขึ้นไม่ส่งผลต่อผลผลิตไข่ แต่พบว่าโคลีนที่ระดับ 5,729 มก./กก.อาหารทำให้การกินได้เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เมื่อเทียบกับระดับ 595 มก./กก.อาหาร นอกจากนั้นได้มีการวิเคราะห์ลิปิดในตับโดยนำตับที่ได้มาสกัดไขมันด้วยเครื่องสกัดแบบ ซอห์กเล็ต (Soxhlet) พบว่า ความเข้มข้นของโคลีนในอาหารที่ระดับ 3,819 และ 5,729 มก./กก.อาหาร ทำให้การสะสมลิปิดในตับลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เมื่อเทียบกับที่ระดับ 955 มก./กก.อาหาร และการเสริมโคลีนในระดับสูงยังไม่พบโคลีนที่ตกค้างในซาก หรือในมูลอีกด้วย นอกจากนั้น Daghir และคณะ (1960) ศึกษาคุณภาพไข่โดยประเมินความเข้มข้นโคลีนในอาหารที่ระดับ 889 1,556 และ 2,222 มก./กก. อาหาร และพบว่าโคลีนในอาหารทุกระดับไม่ส่งผลต่อระดับคอเลสเตอรอลในเลือด คอเลสเตอรอลในไข่ ผลผลิตไข่ น้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลง น้ำหนักไข่ ค่าฮอกยูนิต และค่าความถ่วงจำเพาะ การศึกษาของ Zhai และคณะ (2013) ได้ทำการเสริมโคลีน

ที่ระดับ 425 ถึง 6,800 มก./กก. ในอาหารพื้นฐานที่มีโคลีน 1,041 มก./กก.อาหาร โดยการศึกษาในช่วง 20 ถึง 58 สัปดาห์พบว่า การเสริมโคลีนในระดับสูงถึง 6,800 มก./กก. อาหาร ไม่ส่งผลต่อการกินได้ ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ มวลไข่ อัตราการเปลี่ยนอาหาร ความสูงไข่ขาว ค่าฮอกยูนิต น้ำหนักไข่ขาว น้ำหนักไข่แดง ความแข็งเปลือกไข่ และความหนาเปลือกไข่ แต่กลับพบว่า การเสริมโคลีนในระดับ 425 และ 850 มก./กก. อาหารช่วยพัฒนาสีไข่แดงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่การเสริมในระดับที่สูงขึ้นกลับไม่พบการพัฒนาของสีไข่แดง

การเสริมโคลีนในระดับสูงพบข้อเสียคือทำให้เกิดกลิ่นคาวปลาในไข่ไก่โดย Ward และคณะ (2009) รายงานว่า กลิ่นคาวปลาในไข่ไก่เกิดขึ้นมาจากการสะสมของไตรเมทิลเอมีนที่มากเกินในไข่แดง โดยมนุษย์สามารถตรวจจับกลิ่นที่ผิดปกติได้เมื่อมีระดับไตรเมทิลเอมีนมากกว่า 4 มคก./ไข่แดง 1 กรัม สำหรับปัจจัยการเกิดกลิ่นคาวปลานั้นพบว่ามาจากระดับของโคลีนในอาหาร และ พันธุกรรมซึ่งเกิดจากการมิวเทชันของยีนที่ควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์ flavin-monooxygenase 3 (FMO3) ทำให้ไม่สามารถเปลี่ยนไตรเมทิลเอมีนเป็นสารที่ไร้กลิ่นได้ ดังนั้นจึงเกิดการสะสมของไตรเมทิลเอมีนในฟอลลิเคิลที่กำลังพัฒนา และเกิดเป็นกลิ่นคาวปลาในไข่ไก่ โดยพบว่าการเสริมโคลีนในรูปโคลีนคลอไรด์ที่ระดับ 550 – 2,220 มก./กก.อาหารไม่ทำให้ระดับไตรเมทิลเอมีนมากเกิน 4 มคก. ในไก่ที่ยีนเกิดการมิวเทชัน แต่ Wang และคณะ (2012) พบว่าการเสริมโคลีนที่ระดับ 2,960 มก./กก.อาหาร ในรูปโคลีนคลอไรด์ทำให้เกิดการสะสมของไตรเมทิลเอมีนในไข่แดงสูงขึ้นมากกว่า 4 มคก. เฉพาะในไก่ที่ยีนเกิดการมิวเทชันเท่านั้น แต่ไม่ส่งผลในไก่ที่มียีนปกติ

ผลของการเสริมกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ต่อสมรรถภาพการผลิต และคุณภาพไข่

Chulalongkorn University

การศึกษาของ Hebert และคณะ (2005) ทำการเสริมกรดโฟลิคในอาหารที่ระดับ 0 ถึง 128 มก./กก.อาหาร พบว่าการเสริมในทุกระดับไม่ส่งผลต่อสมรรถภาพการผลิต ($P>0.05$) นอกจากนั้นยังพบว่า การเสริมกรดโฟลิคที่ระดับ 2 มก./กก.อาหารขึ้นไปทำให้ระดับกรดโฟลิคในเลือดสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P<0.0001$) แต่การเสริมที่ระดับ 16 มก./กก.อาหารขึ้นไปให้ผลไม่แตกต่างกันสอดคล้องกับการศึกษาของ Tactacan และคณะ (2012) รายงานว่า กลไกการดูดซึมกรดโฟลิคที่ทางเดินอาหารถูกจำกัดด้วยโปรตีนขนส่งกรดโฟลิคที่เซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็ก โดยพบว่าการเสริมกรดโฟลิคในระดับที่เพิ่มขึ้นไม่ทำให้การดูดซึมกรดโฟลิคในลำไส้เล็กเพิ่มขึ้น

การศึกษาของ Bunchasak และ Kachana (2009) ทำการเสริมกรดโฟลิคที่ระดับ 0, 0.5, 4 และ 10 มก. ร่วมกับวิตามินบี 12 ที่ระดับ 0 0.01 และ 0.08 มก./กก.อาหารพบว่าการเสริมกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ไม่ส่งผลในเรื่องของสมรรถภาพการผลิตในไก่ไข่ ระดับไตรกลีเซอไรด์ และคอเลสเตอรอลในตับ เลือด และไข่ รวมทั้งฟอสโฟลิปิดรวมในเลือด และในไข่ แต่พบว่าการเสริม

กรดโฟลิคมีสหสัมพันธ์ในทางบวกกับปริมาณฟอสโฟลิปิดรวมในเลือด (P<0.05) นอกจากนั้นสมปอง (2004) ได้ทำการเสริมกรดโฟลิคที่ระดับ 0, 0.5, 4 และ 10 มก./กก.อาหารร่วมกับ วิตามินบี 12 ที่ระดับ 0, 0.01 และ 0.08 มก./กก.อาหาร พบว่า การเสริมกรดโฟลิคร่วมกับวิตามินบี 12 มีปฏิสัมพันธ์ร่วมกันต่อการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวที่ระดับ 0.5×0, 4×0.01 และ 10×0.08 มก./กก.อาหาร (P<0.05) และการเสริมวิตามินบี 12 ที่ระดับ 0.01 และ 0.08 มก. ทำให้ความหนาเปลือกไข่เพิ่มขึ้น (P=0.05) นอกจากนั้นการเสริมวิตามินบี 12 ที่ระดับ 0.08 มก./กก.อาหาร ทำให้เปอร์เซ็นต์ไข่ขาวเพิ่มขึ้น จึงส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ไข่แดง และสัดส่วนไข่แดงต่อไข่ขาวลดลง (P<0.05) ซึ่งผลของการเสริมวิตามินบี 12 มีส่วนช่วยในการพัฒนาความหนาเปลือก และเปอร์เซ็นต์ไข่ขาวนั้นอาจมาจากวิตามินบี 12 มีส่วนช่วยในการกระตุ้นการทำงานของฮอร์โมนเอสโตรเจน ซึ่งฮอร์โมนดังกล่าวมีส่วนช่วยพัฒนารังไข่ และท่อนำไข่ทำให้ท่อนำไข่ยาวขึ้น และไข่มีเวลาอยู่ในท่อนำไข่นานจึงทำให้เกิดการหลั่งไข่ขาว และการสะสมแคลเซียมที่เปลือกนานขึ้น สอดคล้องกับผลการทดลองที่พบว่าการเสริมวิตามินบี 12 ที่ระดับ 0.08 มก./อาหาร ทำให้น้ำหนักรังไข่เพิ่มขึ้น น้ำหนักท่อนำไข่เพิ่มขึ้น และมีแนวโน้มท่อนำไข่ยาวขึ้น โดยการเสริมกรดโฟลิค ร่วมกับวิตามินบี 12 ที่ระดับดังกล่าวไม่ส่งผลต่อต้นทุนค่าอาหารในการผลิตไข่ 1 กก. โดยการเสริม วิตามินบี 12 ในอาหารมีแนวโน้มที่ทำให้ค่าอาหารลดลง เนื่องจากการเสริมวิตามินบี 12 มีแนวโน้มทำให้ผลผลิตไข่เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับการไม่เสริม

ผลของการเสริมโคลีน กรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ต่อระดับฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่

การศึกษาการเพิ่มความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่พบว่ามีผู้ทำการศึกษาอยู่อย่างจำกัด เริ่มต้นในปี 1988 โดย Tsiagbe และคณะ ได้ทำการเสริมโคลีนที่ระดับ 1,000 มก./กก.อาหาร ร่วมกับกรดแอมิโนเมทไธโอนีนที่ระดับ 0 125 และ 250 มก./กก.อาหาร ในอาหารพื้นฐานที่มีโคลีน 1,041 มก./กก.อาหาร และทำการศึกษาในไก่ไข่ช่วงให้ผลผลิตไข่สูงสุด พบว่า การเสริมโคลีนที่ระดับ 1,000 มก./กก.อาหาร ทำให้ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่เสริมโคลีน (P<0.001) โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 1,116 และ 957 มก./ไข่แดง 1 ฟอง ในขณะที่การเสริมกรดแอมิโนเมทไธโอนีนไม่ส่งผลต่อความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีน อย่างไรก็ตามเมื่อเทียบต่อกรัมของไข่แดงพบว่าทั้งการเสริมโคลีน และกรดแอมิโนเมทไธโอนีนให้ผลไม่แตกต่างกัน นอกจากนั้นการเสริมโคลีนที่ระดับ 1,000 มก./กก.อาหาร ยังส่งผลทำให้น้ำหนักไข่ น้ำหนักไข่แดง ฟอสโฟลิปิด และสัดส่วนของฟอสฟาทิดิลโคลีน:ฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีน สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้เสริม (P<0.05) (Tsiangbe et al., 1988) สอดคล้องกับรายงานของ Rajalekshmy (2010) ที่ทำการเสริมโคลีน ร่วมกับกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ระดับ 500:2:0.01, 500:2:0.02,

500:4:0.01, 500:4:0.02, 1,000:2:0.01, 1,000:2:0.02, 1,000:4:0.01 และ1,000:4:0.02 มก./กก. อาหาร ในอาหารพื้นฐานที่มีโคลีน กรดโฟลิค และวิตามินบี 12 เท่ากับ 943 0.38 และ 0.002 มก./กก.อาหาร ตามลำดับ พบว่า การเสริมสารทั้งสามตัวร่วมกันช่วยเสริมประสิทธิภาพซึ่งกันและกัน และทำให้ฟอสฟาทิดิลโคลีนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้เสริม (P<0.0001) ระดับที่ทำให้ฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงมีค่าเฉลี่ยมากที่สุดอยู่ที่การเสริมโคลีนที่ระดับ 1,000 มก. ร่วมกับกรดโฟลิคที่ระดับ 4 มก. และวิตามินบี 12 ที่ระดับ 0.02 มก./กก.อาหารโดยให้ค่าเฉลี่ยฟอสฟาทิดิลโคลีนเท่ากับ 176 มก./กรัมของไข่แดง ขณะที่กลุ่มที่ไม่ได้เสริมมีค่าเฉลี่ยฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงเท่ากับ 139 มก./กรัมของไข่แดง (เพิ่มขึ้น 26.6%) (P<0.0001) นอกจากนั้นที่ระดับดังกล่าวยังทำให้ระดับฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในไข่แดงมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 30.6 มก./กรัมของไข่แดงเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้เสริมมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 39.4 มก./กรัมของไข่แดง (P<0.0001; ลดลง 22.3%) ซึ่งผู้ทำการวิจัยได้ทำการสรุปไว้ว่าการเสริมโคลีน ร่วมกับกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 สามารถส่งเสริมการทำงานซึ่งกันและกัน และสามารถเพิ่มความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงได้สูงมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการที่ไม่ได้เสริม และได้รายงานว่าการเสริมโคลีน ร่วมกับ กรดโฟลิค และวิตามินบี 12 สามารถเพิ่มปริมาณฟอสฟาทิดิลโคลีนโดยทำให้ S-adenosylmethionine เพิ่มขึ้น จึงมีการเติมหมู่เมทิลให้กับฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีน ส่งผลให้ฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในไข่แดงลดลง และฟอสฟาทิดิลโคลีนเพิ่มขึ้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

สัตว์ทดลองและการจัดการ

ไก่ไข่พันธุ์ อีซ่า บราวน์ (ISA Brown) ทำการเลี้ยงในกรงตับภายในโรงเรือนระบบปิด ได้รับแสงเป็นเวลา 15 ชั่วโมง ไก่ทุกตัวได้รับการทำวัคซีนตามโปรแกรม ได้รับอาหาร และน้ำแบบกินเต็มที่ (ad libitum) ตลอดการทดลอง การทดลองดำเนินการที่สำนักวิชาการอาหารสัตว์ ศูนย์วิจัยคุณภาพอาหารสัตว์ บริษัทซีพีเอฟ (ประเทศไทย) จำกัด (มหาชน) โดยใช้โปรแกรมระบายอากาศ ควบคุมอุณหภูมิ และโปรแกรมให้แสง ตามมาตรฐานของศูนย์วิจัยคุณภาพอาหารสัตว์ การทดลองครั้งนี้ได้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลองของคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (หมายเลขรับรอง 1431078)

1. แผนการทดลองที่ 1

ศึกษาผลของการเสริมโคลีน ต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีน และฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในไข่แดง โดยสุ่มไก่ไข่อายุ 44 สัปดาห์ จำนวนทั้งสิ้น 840 ตัวแบ่งออกเป็น 5 กลุ่มๆ ละ 6 ซ้ำๆ ละ 28 ตัว ไก่ถูกเลี้ยงบนกรงตับขนาด 60×50×40 ซม. จำนวน 7 ตัวต่อกรง ทำการทดลองเป็นเวลาทั้งสิ้น 6 สัปดาห์

Chulalongkorn University

2. แผนการทดลองที่ 2

ศึกษาผลของการเสริมโคลีนในระดับที่ทำให้ฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงเพิ่มขึ้นสูงที่สุดจากการทดลองที่ 1 ร่วมกับการเสริมกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ต่อสมรรถภาพการผลิต คุณภาพไข่ ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีน และฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในไข่แดง โดยสุ่มไก่ไข่ อายุ 72 สัปดาห์ จำนวนทั้งสิ้น 288 ตัว ออกเป็น 9 กลุ่มๆ ละ 4 ซ้ำๆ ละ 8 ตัว ไก่ถูกเลี้ยงบนกรงตับขนาด 47×40×50 ซม. จำนวน 4 ตัวต่อกรง ทำการทดลองเป็นเวลาทั้งสิ้น 8 สัปดาห์

อาหารทดลอง

1.อาหารทดลองที่ 1

อาหารทดลองทั้งหมด 5 สูตร ประกอบด้วย อาหารพื้นฐานที่คำนวณให้มีระดับโคลีนตามคำแนะนำของสายพันธุ์ (1,400 มก./กก. อาหาร) และอาหารพื้นฐานเสริมด้วยโคลีนที่ระดับ 1,000 1,500 2,000 และ 2,500 มก./กก. อาหาร ตามลำดับ อาหารทดลองทุกสูตรได้มีการคำนวณให้ระดับสารอาหารตามคำแนะนำของสายพันธุ์ของไก่สายพันธุ์อีซ่า บราวน์ ยกเว้นโคลีนโดยสูตรอาหารทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 1 ทำการผสมอาหารพื้นฐานที่ดึงข้าวโพดออกทั้งหมด 4 ครั้งเนื่องจากข้อจำกัดของความจุของเครื่องผสม และใช้อาหารพื้นฐานในปริมาณเท่ากันจากการผสม 4 ครั้งมาผสมกับโคลีน และเติมข้าวโพดให้ครบตามสูตรของแต่ละกลุ่มทดลอง

2. อาหารทดลองที่ 2

อาหารพื้นฐานมีการผลิตขึ้นมาทั้งหมด 4 ครั้ง และใช้อาหารปริมาณเท่ากันมาเติมกรดโฟลิคและวิตามินบี 12 ในภายหลังตามระดับที่กำหนดในแต่ละกลุ่มทดลอง โดยอาหารทั้ง 9 สูตรประกอบด้วย

1. อาหารพื้นฐาน (อาหารที่เสริมโคลีนในระดับสูงกว่าการแนะนำของสายพันธุ์ 1,500 มก./กก. อาหาร ที่ทำให้ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงมีค่าสูงสุดจากการทดลองที่ 1)
2. อาหารพื้นฐานเสริมวิตามินบี 12 ปริมาณ 0.02 มก./กก. อาหาร
3. อาหารพื้นฐานเสริมวิตามินบี 12 ปริมาณ 0.04 มก./กก. อาหาร
4. อาหารพื้นฐานเสริมกรดโฟลิคปริมาณ 4 มก./กก. อาหาร
5. อาหารพื้นฐานเสริมกรดโฟลิคปริมาณ 4 มก. และวิตามินบี 12 ปริมาณ 0.02 มก./กก. อาหาร
6. อาหารพื้นฐานเสริมกรดโฟลิคปริมาณ 4 มก. และวิตามินบี 12 ปริมาณ 0.04 มก./กก. อาหาร
7. อาหารพื้นฐานเสริมกรดโฟลิคปริมาณ 8 มก./กก. อาหาร
8. อาหารพื้นฐานเสริมกรดโฟลิคปริมาณ 8 มก. และวิตามินบี 12 ปริมาณ 12 0.02 มก./กก. อาหาร
9. อาหารพื้นฐานเสริมกรดโฟลิคปริมาณ 8 มก. และวิตามินบี 12 ปริมาณ 12 0.04 มก./กก. อาหาร

สูตรอาหารพื้นฐานที่ใช้แสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบอาหาร และค่าคำนวณโภชนะของอาหารที่ใช้ในการทดลองที่ 1 และ 2

ส่วนประกอบอาหาร (เปอร์เซ็นต์)	การทดลองที่ 1 อาหารทดลอง[1/]					การทดลองที่ 2 อาหารพื้นฐาน[2/]
	T1	T2	T3	T4	T5	
ข้าวโพด	56.20	56.01	55.91	55.82	55.72	55.91
กากถั่วเหลือง(48.5%โปรตีน)	22.46	22.46	22.46	22.46	22.46	22.46
รำละเอียด	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
โมโนแคลเซียมฟอสเฟต	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
หินปูน	9.40	9.40	9.40	9.40	9.40	9.40
เกลือ	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
ดีแอลเมทไธโอนีน	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14
พรีมิกซ์วิตามินและแร่ธาตุ[3/]	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32
โคลีนคลอไรด์ (60 %)	0.08	0.28	0.37	0.47	0.56	0.37
รวม	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
ต้นทุน (บาท/กก.)	16.28	16.31	16.33	16.34	16.36	16.33
ค่าโภชนะที่ได้จากการคำนวณ (%)						
โปรตีน	17.10	17.09	17.08	17.07	17.06	17.08
ไลซีน	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87
เมทไธโอนีน	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42
เมทไธโอนีน+ซิสเตอีน	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71
ไขมัน	3.66	3.65	3.65	3.65	3.64	3.65
เยื่อใย	3.25	3.25	3.25	3.24	3.24	3.25
แคลเซียม	3.87	3.87	3.87	3.87	3.87	3.87
ฟอสฟอรัส	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52
พลังงานใช้ประโยชน์ได้[4/]	2,729	2,722	2,719	2,716	2,713	2,719
โคลีน[5/]	1,402	2,405	2,904	3,403	3,902	2,904

[1/]T1 = อาหารพื้นฐาน; T2 = อาหารพื้นฐานเสริมโคลีน 1,000 มก./กก. ; T3 = อาหารพื้นฐานเสริมโคลีน 1,500 มก./กก.; T4 = อาหารพื้นฐานเสริมโคลีน 2,000 มก./กก. ; T5 = อาหารพื้นฐานเสริมโคลีน 2,500 มก./กก.

[2/]อาหารพื้นฐาน คือ อาหารที่เสริมโคลีนในระดับสูงกว่าการแนะนำของสายพันธุ์ 1,500 มก./กก. อาหาร ที่ทำให้ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงมีค่าสูงสุดจากการทดลองที่ 1

[3/]พรีมิกซ์วิตามินและแร่ธาตุ/กก.อาหาร: วิตามิน A 10,000 หน่วยสากล วิตามิน D_3 2,500 หน่วยสากล วิตามิน E 20 มก. วิตามิน B_1 2 มก. วิตามิน B_2 5 มก. วิตามิน B_3 40 มก.วิตามินB_5 12 มก.วิตามินB_6 5 มก. วิตามิน B_{12} 0.015 มก. วิตามิน K_3 3 มก. กรดโฟลิค 0.75 มก. แมงกานีส 70 มก. สังกระสี 60 มก. เหล็ก 60 มก. ทองแดง 8 มก. ไอโอดีน 1 มก. ซีลีเนียม 0.25 มก.

[4/]พลังงานใช้ประโยชน์ได้ หน่วยคือ กิโลแคลอรี่/กก.อาหาร

[5/]โคลีน หน่วยคือ มก./กก.อาหาร

การเก็บข้อมูล

1.บันทึกสมรรถภาพการผลิตในไก่ไข่

การทดลองที่ 1 ทำการบันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ภายในโรงเรือนเวลา 08.00 น. 13.00 น. และ 16.00 น.จากการบันทึกพบว่า อุณหภูมิเฉลี่ย และความชื้นสัมพัทธ์ตลอดการทดลองอยู่ที่ 27.17 $\pm$ 1.90 และ 77.76 $\pm$ 2.73 เปอร์เซ็นต์ ทำการชั่งน้ำหนักเริ่มต้น และสิ้นสุดการทดลองเพื่อนำไปคำนวณการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวไก่เฉลี่ยต่อตัวของแต่ละกลุ่มทดลอง ชั่งน้ำหนักอาหารที่เหลือในทุกสัปดาห์ของการทดลองเพื่อนำไปคำนวณปริมาณอาหารที่กินของไก่เฉลี่ยต่อตัวต่อวัน บันทึกจำนวนไก่ตาย จำนวนไข่ และน้ำหนักไข่ในทุกวัน เพื่อนำมาคำนวณอัตราการตาย อัตราการให้ผลผลิตไข่ต่อจำนวนแม่ไก่มีชีวิต น้ำหนักไข่เฉลี่ยต่อฟอง มวลไข่ อัตราการเปลี่ยนอาหารต่อน.น. มวลไข่ และต้นทุนค่าอาหารต่อการผลิตไข่ 1 กิโลกรัม

การทดลองที่ 2 ทำการเก็บข้อมูลเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 มีอุณหภูมิเฉลี่ย และความชื้นสัมพัทธ์ตลอดการทดลองอยู่ที่ 29.34 $\pm$ 1.24 และ 71.84 $\pm$ 2.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

2. เก็บตัวอย่างไข่เพื่อประเมินคุณภาพไข่

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างไข่เมื่อสิ้นสุดการทดลองจำนวน 5 ฟองต่อซ้ำเพื่อวัดคุณภาพไข่ประกอบด้วยค่าฮอกยูนิต สีไข่แดง น้ำหนักไข่แดง และน้ำหนักเปลือกไข่ จากนั้นคำนวณน้ำหนักไข่ขาวโดยนำน้ำหนักไข่แดง และน้ำหนักเปลือกไข่มาหักลบออกจากน้ำหนักไข่

3. เก็บตัวอย่างไข่แดงเพื่อวิเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีน และฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีน

ทำการเก็บตัวอย่างไข่แดงหลังจากประเมินคุณภาพไข่เสร็จสิ้นจำนวน 5 ฟองต่อซ้ำ ใช้ช้อนตักส่วนของเยื่อหุ้มไข่แดงออก และนำเนื้อไข่แดงที่ได้ผสมเข้ากันทั้ง 5 ฟองนำไข่แดงที่ได้เข้าแช่แข็งที่

อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วัน จากนั้นจึงนำไข่แดงเข้าเครื่องแช่เยือกแข็ง (FD5 Series + T controller, SimInternational Co., Ltd., China) เป็นเวลา 1 วัน นำไข่ออกจากเครื่องแช่เยือกแข็งใส่เครื่องปั่นเพื่อเปลี่ยนไข่แดงให้อยู่ในรูปผง จากนั้นนำไข่แดงผงแช่ที่ตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีน และฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนต่อไป

การประเมินสมรรถภาพการผลิต และคุณภาพไข่

1. การประเมินสมรรถภาพการผลิตในไก่ไข่

ประกอบด้วย น้ำหนักเปลี่ยนแปลง (กรัม/ตัว) อัตราการตาย (เปอร์เซ็นต์) ผลผลิตไข่ต่อจำนวนแม่ไก่มีชีวิต (เปอร์เซ็นต์) น้ำหนักไข่เฉลี่ยต่อฟอง (กรัม) มวลไข่ (กรัม/ฟอง) ปริมาณอาหารที่กิน (กรัม/ตัว) อัตราการเปลี่ยนอาหารต่อน.น.มวลไข่ (ต่อกรัมของมวลไข่) และต้นทุนค่าอาหาร (บาท/ไข่ 1 กิโลกรัม) ดังแสดง

1.1 น้ำหนักเปลี่ยนแปลง (กรัม/ตัว)

= น้ำหนักไก่ไข่หลังการทดลอง – น้ำหนักไก่ไข่ก่อนการทดลอง

1.2 อัตราการตาย (เปอร์เซ็นต์)

$$= \frac{\text{จำนวนไก่ไข่ที่ตาย} \times 100}{\text{จำนวนไก่ไข่ที่เริ่มการทดลอง}}$$

1.3 ผลผลิตไข่ต่อจำนวนแม่ไก่มีชีวิต (Hen-day Egg Production; HD) (เปอร์เซ็นต์)

$$= \frac{\text{จำนวนไข่ในช่วงการทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนวันที่ทำการทดลอง} \times \text{จำนวนไก่}}$$

1.4 น้ำหนักไข่เฉลี่ยต่อฟอง (กรัม)

$$= \frac{\text{น้ำหนักไข่ตลอดการทดลอง}}{\text{จำนวนไข่ทั้งหมด}}$$

1.5 มวลไข่ (กรัม/ฟอง)

= ผลผลิตไข่ต่อจำนวนแม่ไก่มีชีวิต × น้ำหนักไข่เฉลี่ยต่อฟอง

1.6 ปริมาณอาหารที่กิน (กรัม/ตัว/วัน)

= ปริมาณอาหารที่กินในช่วงการทดลอง
จำนวนวันที่ทำการทดลอง × จำนวนไก่

1.7 อัตราการเปลี่ยนอาหารต่อน.น.มวลไข่

= ปริมาณอาหารที่กิน
มวลไข่

1.8 ต้นทุนค่าอาหาร (บาท/มวลไข่ 1 กิโลกรัม)

= ต้นทุนค่าอาหารช่วงการทดลอง × อัตราการเปลี่ยนอาหาร

2. การประเมินคุณภาพไข่

2.1. ค่าฮอกยูนิต และสีไข่แดง

นำไข่ชั่งน้ำหนักบนเครื่องชั่ง จากนั้นตอกไข่ลงบนกึ่งกลางถาดของเครื่อง Egg Multitester EMT-7300 (Robotmation Co. Ltd., Tokyo, Japan) อ่านค่าฮอกยูนิต และค่าสีไข่แดงบนหน้าจอแสดงผล

2.2. น้ำหนักไข่แดง น้ำหนักเปลือกไข่ และน้ำหนักไข่ขาว

นำเนื้อไข่มาแยกไข่แดงออกจากไข่ขาว โดยใช้ช้อนตักส่วนของไข่แดงวางลงบนกระดาษเอนกประสงค์ (Multi-fold towels 22.0cm × 24.5cm, Kimberly-Clark Co.Ltd., Thailand) กลิ้งไข่แดงบนกระดาษเอนกประสงค์จนปราศจากไข่ขาว และนำไข่แดงที่ได้ดังกล่าวชั่งน้ำหนัก สำหรับเปลือกไข่ล้างให้สะอาดตากให้แห้งที่อุณหภูมิเฉลี่ย 27 องศาเซลเซียส โดยทิ้งไว้ 1 คืน หลังจากนั้นจึงนำเปลือกไข่มาชั่งน้ำหนัก แล้วนำค่าน้ำหนักไข่แดง และน้ำหนักเปลือกไข่ที่ได้มาหักออกจากน้ำหนักไข่เพื่อคำนวณหาน้ำหนักไข่ขาว รวมทั้งคำนวณเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักไข่แดง เปลือกไข่ และไข่ขาวต่อน้ำหนักไข่ทั้งฟอง

การวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. การวิเคราะห์ค่าโภชนะของอาหารทดลอง

คุณค่าทางโภชนะของอาหารทั้ง 2 การทดลอง ส่งวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการทางเคมีโรงงานอาหารสัตว์ บริษัท ซีพีเอฟ (ประเทศไทย) จำกัด (มหาชน) โดยวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนะตามวิธีการดังนี้ โปรตีน ISO 16634-1 (ISO,2008b) ไขมัน ISO 11085 (ISO, 2008a) เยื่อใย AOCS Ba 6a-05 (AOCS, 2005) เถ้า ISO 5984 (ISO, 2002) แคลเซียม ISO 27085 (ISO, 2009) ฟอสฟอรัส ISO 27085 (ISO, 2009) และพลังงานรวม ISO 9831 (ISO, 1998) สำหรับการวิเคราะห์โคลีน ส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ที่บริษัท SGS (Thailand) limited ตามวิธีการ 999.24 ของ AOAC (2005) โดยระดับโคลีนในอาหารทดลองของการทดลองที่ 1 วิเคราะห์ทั้งหมด 5 กลุ่มทดลอง และการทดลองที่ 2 วิเคราะห์เฉพาะอาหารพื้นฐานก่อนการผสมกรดโฟลิค และวิตามินบี 12

2. การวิเคราะห์ฟอสโฟลิปิด

2.1 การสกัดฟอสโฟลิปิดจากตัวอย่าง

การสกัดฟอสโฟลิปิดจากไข่แดง ประยุกต์จากวิธีของ Rajaleskhmy (2010) โดยชั่งไข่แดง 0.1 กรัมใส่ขวดปรับปริมาตร 100 มล. และเติมด้วยเมทานอลเกรดสำหรับ HPLC จากนั้นเขย่าสารละลายด้วยเครื่องกวนสารละลาย (Magnetic stirrer) เป็นเวลา 1 ชั่วโมงแล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอลเกรดสำหรับ HPLC จนครบ 100 มล. กรองสารละลายที่ได้ผ่านที่กรองสารสำหรับไซริงค์ (Syringe Filter) ชนิด mixed cellulose (MCM) ขนาดรูพรุน 0.45 ไมครอน บรรจุใส่ขวดฉีดสารตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ HPLC ต่อไป

2.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

2.2.1 สารมาตรฐานฟอสฟาทิดิลโคลีน

เตรียมจาก L-α-phosphatidylcholine ที่อยู่ในรูปผงไลโอฟิไลซ์ (Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, United States of America) นำมาชั่งน้ำหนัก 0.025 กรัม ละลายด้วยเมทานอลเกรดสำหรับ HPLC ในบีกเกอร์โดยใช้แท่งแก้วคนให้เข้ากันจากนั้นเทใส่ขวดปรับปริมาตรและปรับปริมาตรจบครบ 25 มล.จนได้สารละลายมาตรฐาน (Stock solution) ที่มีความเข้มข้น 1 มก./มล. จากนั้นเจือจางสารมาตรฐานเข้มข้น 5 ระดับ โดยปิเปตจากสารละลายมาตรฐาน (Stock solution) ปริมาตร 1 2 3 4 และ 5 มล. ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มล. จากนั้นทำการปรับ

ปริมาตรอีกครั้งด้วยเมทานอลเกรดสำหรับ HPLC จนครบทั้ง 5 ขวด ซึ่งจะมีความเข้มข้น 0.1 0.2 0.3 0.4 และ 0.5 มก./มล. ตามลำดับ

2.2.2 สารมาตรฐานฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีน

เตรียมจาก L-α-phosphatidylethanolamine ที่อยู่ในรูปผงไลโอฟิไลซ์ (Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, United States of America) ชั่งน้ำหนัก 0.0025 กรัม ละลายด้วยเมทานอลเกรดสำหรับ HPLC ในบีกเกอร์โดยใช้แท่งแก้วคนให้เข้ากันจากนั้นเทใส่ขวดปรับปริมาตรและปรับปริมาตรจบครบ 25 มล.จนได้สารละลายมาตรฐาน (Stock solution) ที่มีความเข้มข้น 0.1 มก./มล. เจือจางสารมาตรฐานเข้มข้น 5 ระดับ โดยปิเปตจากสารละลายมาตรฐาน (Stock solution) ปริมาตร 1 2 3 4 และ 5 มล. ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มล. จากนั้นทำการปรับปริมาตรอีกครั้งด้วยเมทานอลเกรดสำหรับ HPLC จนครบทั้ง 5 ขวด ซึ่งจะมีความเข้มข้น 0.01 0.02 0.03 0.04 และ 0.05 มก./มล. ตามลำดับ

2.3 การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง High Performance liquid Chromatography

นำสารมาตรฐาน และสารละลายมาวิเคราะห์หาความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนและฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนด้วยเทคนิค High Performance liquid Chromatography โดยใช้เครื่องของ Agilent 1200 series (Agilent Technologies, United Kingdom) ที่ติดตั้งกับ autosamplers รุ่น G1329A Quaternary pump รุ่น G1311A และ UV detector รุ่น G13155D โดยการแยกชนิด และหาปริมาณฟอสโฟลิปิดทั้ง 2 ชนิดใช้สภาวะเดียวกันโดยประยุกต์จากวิธีการของ Wabel (1998) ดังนี้

- Analytical column; lichrosorb column 5 µm 60 A 4×250 mm
- (Merck KGaA, Darmstadt, Germany).
- Mobile phase; phase A คือ เมทานอล
  phase B คือ n-hexane/2-propanol/water สัดส่วน (41:55:4 (v/v/v)
- Flow rate; 1.2 มล./นาที
- Column oven; อุณหภูมิห้อง
- Injection volumn; 100 ไมโครลิตร
- Detector; รังสีอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร

ขั้นตอนการตั้ง Gradient program ดังตารางที่ 2

Chulalongkorn University

ตารางที่ 2 Gradient program สำหรับแยกฟอสฟาทิดิลโคลีน และฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีน

เวลา (นาที)	Mobile phase A%	Mobile phase B%
0	30	70
6	30	70
15	90	10
30	90	10
35	30	70
40	30	70

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การทดลองที่ 1 วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนระหว่างกลุ่มทดลอง (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยแต่ละกลุ่มทดลอง โดยวิธีการ Bonferroni t-test ที่ระดับนัยสำคัญ $P<0.05$ โดยใช้โปรแกรม SAS (SAS, 2002)

การทดลองที่ 2 วางแผนการทดลองแบบ 3×3 Factorial in Completely Randomized Design ในการทดลองประกอบด้วย 2 ปัจจัย โดย ปัจจัยที่ 1 คือ การเสริมกรดโฟลิค 3 ระดับ คือ 0 4 และ 8 มก./กก.อาหาร และปัจจัยที่ 2 คือ การเสริมวิตามินบี 12 3 ระดับ คือ 0 0.02 และ 0.04 มก./กก.อาหาร นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนระหว่างกลุ่มทดลอง (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยแต่ละกลุ่มทดลอง โดยวิธีการ Bonferroni t-test ที่ระดับนัยสำคัญ $P<0.05$ โดยใช้โปรแกรม SAS (SAS, 2002)

บทที่ 4

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1

คุณค่าทางโภชนะของอาหารทดลองที่ 1

คุณค่าทางโภชนะของอาหารที่ใช้ในการทดลองทั้ง 5 สูตรแสดงผลในตารางที่ 3 จากการวิเคราะห์ทางเคมีโดยปรับให้อยู่บนฐานของวัตถุแห้งพบว่า เปอร์เซ็นต์โปรตีนในอาหารทดลองค่อนข้างมีความแปรปรวน โดยในกลุ่มควบคุมพบว่ามีโปรตีนต่ำสุดคือ 17.97 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่เสริมโคลีน 1,000 มก./กก.อาหาร มีค่าเปอร์เซ็นต์โปรตีนสูงกว่ากลุ่มทดลองกลุ่มอื่นๆ คือ 20.51 เปอร์เซ็นต์ สำหรับคุณค่าทางโภชนะด้านอื่น ๆ พบว่ามีความแตกต่างกันเล็กน้อย ขณะที่ความเข้มข้นของโคลีนจากการวิเคราะห์ในกลุ่มทดลองพบว่าอยู่ในช่วง 1,138 ถึง 3,577 มก./กก.อาหาร ซึ่งความเข้มข้นโคลีนที่ได้จากการวิเคราะห์มีระดับเพิ่มขึ้นตามการเสริมโคลีนคลอไรด์สอดคล้องกับการคำนวณในแต่ละกลุ่มทดลอง แต่ต่ำกว่าระดับที่คำนวณได้

ผลของโคลีนต่อสมรรถภาพการผลิต

ผลของโคลีนต่อสมรรถภาพการผลิตในไก่ไข่ช่วงอายุ 44 ถึง 49 สัปดาห์ แสดงในตารางที่ 4 จากการศึกษาพบว่าการเสริมโคลีนที่ระดับ 1,000 ถึง 2,500 มก./กก.อาหาร ไม่ส่งผลต่อสมรรถภาพการผลิตในเรื่องของ น้ำหนักไก่ที่เปลี่ยนแปลง อัตราการตาย ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่เฉลี่ยต่อฟองมวลไข่ ปริมาณอาหารที่กิน อัตราการเปลี่ยนอาหารต่อน.น.มวลไข่ และต้นทุนค่าอาหารต่อการผลิตไข่ 1 กก. ($P>0.05$)

ผลของโคลีนต่อคุณภาพไข่

การวิเคราะห์คุณภาพไข่เมื่อสิ้นสุดการทดลอง แสดงในตารางที่ 5 จากการศึกษาพบว่าการเสริมโคลีนในระดับสูงถึง 2,500 มก./กก. อาหาร ไม่ส่งผลต่อ ค่าฮอกยูนิต สีไข่แดง น้ำหนักไข่แดง

น้ำหนักไข่ขาว และน้ำหนักเปลือกไข่ (P>0.05) เช่นเดียวกับ เปอร์เซ็นต์ไข่แดง เปอร์เซ็นต์ไข่ขาว และเปอร์เซ็นต์เปลือกไข่ (P>0.05)

ผลของโคลีนต่อความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดง

ปริมาณฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงแสดงผลในรูปของกราฟ (ภาพที่ 6 ก.) พบว่า การเสริมโคลีนส่งผลต่อความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.0001) โดยการเสริมโคลีนในทุกระดับทำให้ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 6) ซึ่งจากการทดลองครั้งนี้พบว่า การเสริมโคลีนที่ระดับ 1,500 มก./กก.อาหาร ทำให้ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงเพิ่มสูงขึ้นเฉลี่ยมากที่สุด ในขณะที่การเสริมในระดับสูงขึ้น (2,000-2,500 มก./กก.อาหาร) กลับไม่พบว่าทำให้ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเทียบกับการเสริมในระดับ 1,500 มก./กก. อาหาร และการเสริมในระดับสูงสุดของการทดลอง (2,500 มก./กก.อาหาร) กลับพบว่าทำให้ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงมีค่าน้อยกว่ากลุ่มที่เสริมโคลีนที่ระดับ 1,500 มก./กก.อาหาร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลของโคลีนต่อความเข้มข้นฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในไข่แดง

ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในไข่แดง พบว่าการเสริมโคลีนส่งผลต่อความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในไข่แดงอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.0001) โดยกราฟแสดงให้เห็นถึงความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนที่ลดลงโดยมีทิศทางตรงกันข้ามกับฟอสฟาทิดิลโคลีนที่เพิ่มขึ้นในไข่แดง ในกลุ่มที่เสริมโคลีนที่ระดับ 1,000 มก./กก.อาหารพบว่าให้ผลไม่ต่างกับกลุ่มควบคุม ขณะที่การเสริมโคลีนที่ระดับ 1,500 มก./กก.อาหาร ซึ่งเป็นระดับที่ทำให้ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนในแดงมีค่าเฉลี่ยสูงที่สุดนั้น พบว่าทำให้ฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่การเสริมในระดับสูงสุดของการทดลอง (2,500 มก./กก.อาหาร) กลับพบว่าทำให้ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในไข่แดงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มที่เสริมโคลีนระดับ 1,500 มก./กก.อาหาร (ภาพที่ 6 ข.)

การทดลองที่ 2

คุณค่าทางโภชนะของอาหารทดลองที่ 2

คุณค่าทางโภชนะของอาหารพื้นฐานที่ใช้ในการทดลองที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีปรับให้อยู่บนฐานของวัตถุแห้งพบว่า คุณค่าทางโภชนะสูงกว่ากลุ่มที่ 3 ของการทดลองที่ 1 ที่เสริมโคลีนระดับเดียวกัน (1,500 มก./กก.อาหาร) เล็กน้อย ยกเว้นค่าเถ้า และแคลเซียมที่ต่ำกว่า ส่วนฟอสฟอรัสไม่แตกต่างกันขณะที่ความเข้มข้นของโคลีนจากการวิเคราะห์อยู่ที่ระดับ 2,712 มก./กก. อาหารซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับความเข้มข้นของโคลีนในกลุ่มทดลองที่ 3 ในการทดลองที่ 1 มีค่าเท่ากับ 2,670 มก./กก.อาหาร (ตารางที่ 3)

ผลของกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ต่อสมรรถภาพการผลิต

ผลของกรดโฟลิค ร่วมกับวิตามินบี 12 ในไก่ไข่ช่วงอายุ 72-79 สัปดาห์จากการศึกษาพบว่าการเสริมกรดโฟลิคที่ระดับ 0 4 และ 8 ร่วมกับวิตามินบี 12 ที่ระดับ 0 0.02 และ 0.04 มก./กก. อาหาร ในอาหารพื้นฐานที่มีการเสริมโคลีนระดับ 1,500 มก./กก.อาหาร พบว่าไม่มีปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ในทุกค่าสังเกตที่เกี่ยวข้องกับสมรรถภาพการผลิต (ตารางที่ 6) ได้แก่ น้ำหนักที่เปลี่ยนแปลง อัตราการตาย ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่เฉลี่ยต่อฟอง มวลไข่ ปริมาณอาหารที่กิน อัตราการเปลี่ยนอาหารต่อน.น.มวลไข่ และต้นทุนค่าอาหารต่อการผลิตไข่ 1 กก. ($P>0.05$) ดังนั้นจึงแยกพิจารณาทีละปัจจัย และพบว่ากรดโฟลิค หรือวิตามินบี 12 ไม่ส่งผลต่อสมรรถภาพการผลิตในทุกพารามิเตอร์เช่นเดียวกัน ($P>0.05$)

ผลของกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ต่อคุณภาพไข่

การประเมินคุณภาพไข่กระทำเมื่อสิ้นสุดการทดลอง จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่มีปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างกรดโฟลิค และวิตามินบี12 ในอาหารพื้นฐานที่มีการเสริมโคลีนระดับ 1,500 มก./กก.อาหาร ต่อค่าสังเกตที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพไข่ (ตารางที่ 7) ได้แก่ ค่าฮอกยูนิต สีไข่แดง น้ำหนักไข่แดง น้ำหนักไข่ขาว และน้ำหนักเปลือกไข่ ($P>0.05$) เช่นเดียวกับ เปอร์เซ็นต์ไข่แดง

เปอร์เซ็นต์ไข่ขาว และเปอร์เซ็นต์เปลือกไข่ โดยเมื่อแยกพิจารณาทีละปัจจัยพบว่ากรดโฟลิค หรือวิตามินบี 12 ไม่ส่งผลต่อคุณภาพไข่ในทุกด้านเช่นเดียวกัน (P>0.05)

ผลของกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ต่อความเข้มข้นฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดง

ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงแสดงดังตารางที่ 8 จากการศึกษาพบว่า ไม่มีปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ต่อความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีน (P>0.05) และเมื่อแยกพิจารณาทีละปัจจัยพบว่ากรดโฟลิค หรือวิตามินบี 12 ไม่ส่งผลต่อความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงเช่นเดียวกัน (P>0.05)

ผลของกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ต่อความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในไข่แดง

ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในไข่แดงแสดงดังตารางที่ 8 จากการศึกษาพบว่า ไม่มีปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ต่อความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีน (P>0.05) และเมื่อแยกพิจารณาทีละปัจจัยพบว่า กรดโฟลิค หรือวิตามินบี 12 ไม่ส่งผลต่อความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในไข่แดงเช่นเดียวกัน (P>0.05)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 3 คุณค่าทางโภชนะของอาหารในการทดลองที่ 1 และอาหารพื้นฐานที่ใช้ในการทดลองที่ 2 (กรัม/100 กรัมวัตถุแห้งในอาหาร)

สารอาหาร	อาหารการทดลองที่ 1[1/]					อาหารพื้นฐาน[2/]
	T1	T2	T3	T4	T5	การทดลองที่ 2
โปรตีน	17.97	20.51	19.24	19.31	18.32	20.29
ไขมัน	4.16	4.39	4.42	4.73	4.89	4.53
เยื่อใย	2.48	2.56	2.76	2.75	2.58	3.31
เถ้า	17.08	17.95	16.00	15.85	15.75	13.57
แคลเซียม	5.52	5.65	4.84	4.72	4.86	3.73
ฟอสฟอรัส	0.71	0.82	0.73	0.72	0.68	0.73
พลังงานรวม	3,890	3,907	3,990	4,001	3,999	4,099
โคลีน[3/]	1,138	2,447	2,670	3,261	3,577	2,712

[1/]T1 = อาหารพื้นฐาน; T2 = อาหารพื้นฐานเสริมโคลีน 1,000 มก./กก. ; T3 = อาหารพื้นฐานเสริมโคลีน 1,500 มก./กก. ; T4 = อาหารพื้นฐานเสริมโคลีน 2,000 มก./กก. ; T5 = อาหารพื้นฐานเสริมโคลีน 2,500 มก./กก.

[2/]อาหารพื้นฐาน คือ อาหารที่เสริมโคลีนในระดับ 1,500 มก./กก.

[3/]โคลีน วิเคราะห์ตามวิธีการ 999.24 ของ AOAC (2005) มีหน่วยเป็น มก./กก.อาหาร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4 ผลของโคลีนต่อสมรรถภาพการผลิตในการทดลองที่ 1

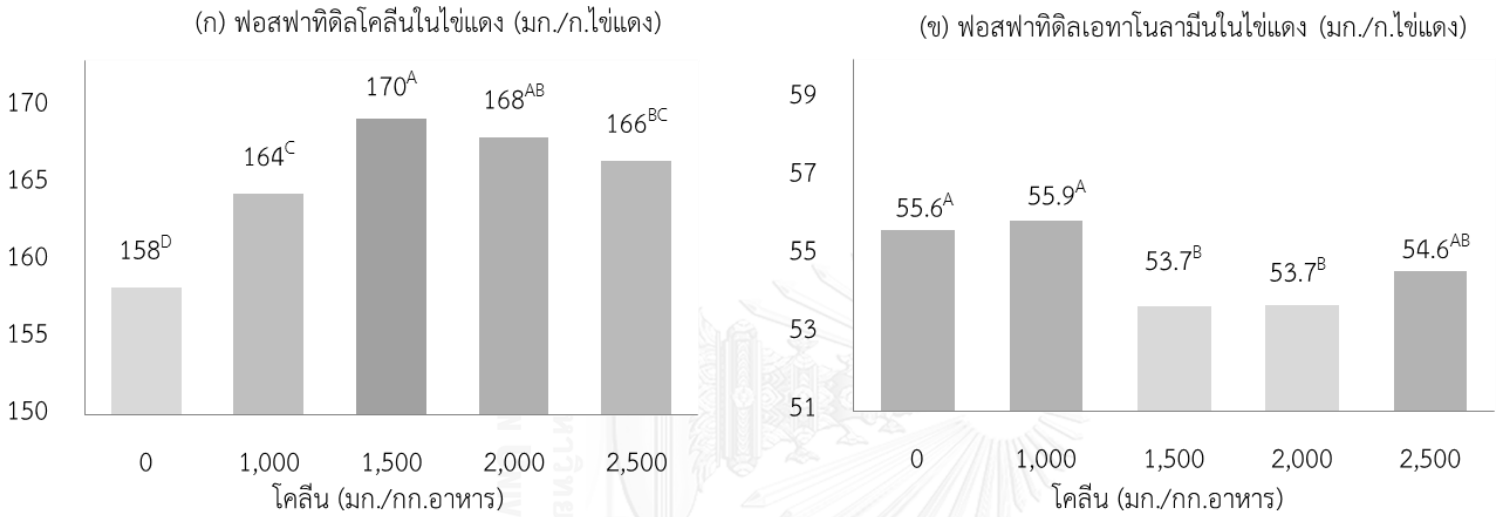
	อาหารทดลอง[1/]						
พารามิเตอร์	T1	T2	T3	T4	T5	SEM	P-value
น้ำหนักเริ่มต้น (กก./ตัว)	1.85	1.87	1.83	1.81	1.86	0.01	0.359
น้ำหนักสุดท้าย (กก./ตัว)	1.89	1.89	1.87	1.84	1.89	0.01	0.508
น้ำหนักเปลี่ยนแปลง (กรัม/ตัว)	42.2	19.9	43.7	26.0	34.3	3.41	0.111
อัตราการตาย (เปอร์เซ็นต์)	0.00	0.00	0.60	0.00	0.00	0.12	0.426
ผลผลิตไข่ (เปอร์เซ็นต์)	88.8	90.0	89.4	89.2	90.4	0.40	0.743
น้ำหนักไข่ (กรัม/ฟอง)	60.6	61.3	60.6	60.6	60.7	0.21	0.846
มวลไข่ (กรัม/ฟอง)	53.8	55.2	54.2	54.1	54.9	0.34	0.731
ปริมาณอาหารที่กิน (กรัม/ตัว/วัน)	106	104	106	103	106	0.77	0.707
อัตราการเปลี่ยนอาหารต่อน.น.มวลไข่	1.96	1.89	1.96	1.90	1.93	0.01	0.187
ต้นทุนค่าอาหาร (บาท/กก.มวลไข่)	31.9	30.8	31.9	31.1	31.6	0.19	0.205

[1/]T1 = อาหารพื้นฐาน; T2 = อาหารพื้นฐานเสริมโคลีน 1,000 มก./กก. ; T3 = อาหารพื้นฐานเสริมโคลีน 1,500 มก./กก. ; T4 = อาหารพื้นฐานเสริมโคลีน 2,000 มก./กก. ; T5 = อาหารพื้นฐานเสริมโคลีน 2,500 มก./กก.

ตารางที่ 5 ผลของโคลีนต่อคุณภาพไข่ในการทดลองที่ 1

	อาหารทดลอง[1/]						
พารามิเตอร์	T1	T2	T3	T4	T5	SEM	P-value
น้ำหนักไข่ (กรัม)	62.1	61.8	61.2	61.3	62.5	0.36	0.778
ค่าฮอกยูนิต	90.9	90.1	90.2	90.4	90.3	0.46	0.989
สีไข่แดง	9.36	9.40	9.35	9.23	9.63	0.05	0.184
น้ำหนักไข่แดง (กรัม)	15.6	15.3	15.2	15.3	15.2	0.10	0.704
น้ำหนักไข่แดง (เปอร์เซ็นต์)	25.2	24.7	25.0	24.9	24.3	0.11	0.139
น้ำหนักไข่ขาว (กรัม)	40.6	40.6	40.1	40.3	41.5	0.27	0.586
น้ำหนักไข่ขาว (เปอร์เซ็นต์)	65.3	65.8	65.5	65.8	66.4	0.13	0.117
น้ำหนักเปลือก (กรัม)	5.91	5.86	5.83	5.68	5.81	0.04	0.515
น้ำหนักเปลือก (เปอร์เซ็นต์)	9.52	9.50	9.53	9.29	9.31	0.06	0.479

[1/] T1 = อาหารพื้นฐาน; T2 = อาหารพื้นฐานเสริมโคลีน 1,000 มก./กก. ; T3 = อาหารพื้นฐานเสริมโคลีน 1,500 มก./กก. ; T4 = อาหารพื้นฐานเสริมโคลีน 2,000 มก./กก. ; T5 = อาหารพื้นฐานเสริมโคลีน 2,500 มก./กก.



ภาพที่ 6 ผลของโคลีนต่อความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีน (ก.) และฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีน (ข.) ในไข่แดงในการทดลองที่ 1 ความแตกต่างของฟอสฟาทิดิลโคลีน และฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนที่ระดับนัยสำคัญ $P<0.0001$

ตารางที่ 6 ผลของการเสริมกรดโฟลิคร่วมกับวิตามินบี 12 ต่อสมรรถภาพการผลิตในไก่ไข่ในการทดลองที่ 2

ระดับการเสริม (มก./กก. อาหาร)	น.น.เริ่มต้น (กก./ตัว)	น.น.สุดท้าย (กก./ตัว)	น.น.เปลี่ยน (ก./ตัว)	อัตราการตาย (%)	ผลผลิตไข่ (%)	น.น.ไข่ (ก./ฟอง)	มวลไข่ (ก./ฟอง)	อาหารที่กิน (ก./ตัว/วัน)	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นไข่	ต้นทุนค่าอาหาร (บาท/กก.มวลไข่)
กรดโฟลิค (F)										
0	2.10	2.15	53.0	1.04	83.1	64.3	53.4	113	2.12	34.7
4	2.03	2.09	55.6	0.00	83.1	64.0	53.2	113	2.12	34.7
8	2.07	2.13	59.4	0.00	83.8	64.5	54.0	114	2.12	34.7
วิตามินบี 12 (B_{12})										
0	2.06	2.11	51.7	0.00	83.4	64.0	53.3	113	2.14	35.0
0.02	2.05	2.10	56.3	0.00	82.5	64.3	53.0	111	2.11	34.4
0.04	2.09	2.15	60.3	1.04	84.1	64.5	54.2	115	2.12	34.8
F × B_{12}										
0 × 0	2.09	2.14	47.5	0.00	85.3	63.6	51.4	110	2.06	33.6
0 × 0.02	2.08	2.13	52.9	0.00	81.7	64.7	52.8	112	2.13	34.8
0 × 0.04	2.13	2.19	58.6	3.13	82.3	64.7	51.2	116	2.18	35.7
4 × 0	2.00	2.06	60.5	0.00	83.1	63.7	51.8	115	2.17	35.6
4 × 0.02	2.12	2.15	23.1	0.00	80.9	64.4	51.3	111	2.13	34.8
4 × 0.04	1.97	2.05	83.2	0.00	85.4	63.7	51.0	112	2.07	33.8
8 × 0	2.09	2.14	47.0	0.00	81.8	64.7	51.9	115	2.18	35.7
8 × 0.02	1.94	2.04	92.8	0.00	84.9	63.7	51.6	111	2.06	33.7
8 × 0.04	2.18	2.22	39.2	0.00	84.6	65.1	52.9	117	2.12	34.8
SEM	0.03	0.02	6.60	0.35	1.04	0.36	0.69	1.08	0.03	0.43
P-value										
F	0.586	0.520	0.914	0.381	0.967	0.852	0.898	0.767	0.999	0.100
B_{12}	0.794	0.683	0.861	0.381	0.843	0.866	0.799	0.446	0.899	0.901
F × B_{12}	0.224	0.433	0.083	0.425	0.800	0.851	0.960	0.773	0.627	0.626

CHULALONGKORN UNIVERSITY จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 7 ผลของการเสริมกรดโฟลิคร่วมกับวิตามินบี 12 ต่อคุณภาพไข่ในการทดลองที่ 2

ระดับการเสริม (มก./กก. อาหาร)	น้ำหนักไข่ (ก.)	ค่าฮอกยูนิต	สีไข่แดง	น้ำหนักไข่แดง (ก.)	น้ำหนักไข่แดง (%)	น้ำหนักไข่ขาว (ก.)	น้ำหนักไข่ขาว (%)	น้ำหนักเปลือก (ก.)	น้ำหนักเปลือก (%)
กรดโฟลิค (F)									
0	62.2	81.0	10.2	16.3	26.3	39.9	64.0	6.02	9.73
4	62.0	84.3	10.1	16.4	26.6	39.1	63.9	5.85	9.49
8	62.6	83.8	10.2	16.5	26.5	39.9	63.8	6.09	9.78
วิตามินบี 12 (B_{12})									
0	61.2	83.2	10.2	16.2	26.5	39.1	63.8	5.90	9.68
0.02	63.3	82.7	10.3	16.4	26.0	40.8	64.3	6.10	9.68
0.04	62.3	83.2	10.1	16.7	26.8	39.0	63.5	5.97	9.65
F × B_{12}									
0 × 0	59.8	80.2	10.2	15.5	26.0	38.6	64.4	5.71	9.60
0 × 0.02	64.2	81.5	10.2	16.2	25.3	41.9	65.1	6.17	9.65
0 × 0.04	62.6	81.3	10.2	17.1	27.5	39.2	62.5	6.19	9.94
4 × 0	60.6	84.7	10.0	16.5	27.4	38.3	62.9	5.84	9.69
4 × 0.02	64.6	83.4	10.3	16.8	26.1	41.8	64.7	5.96	9.26
4 × 0.04	60.9	84.8	10.1	15.9	26.3	37.2	64.1	5.76	9.52
8 × 0	63.2	84.7	10.3	16.5	26.1	40.5	64.1	6.15	9.74
8 × 0.02	61.1	83.3	10.3	16.3	26.6	38.7	63.3	6.16	10.1
8 × 0.04	63.4	83.5	10.1	16.8	26.7	40.6	63.9	5.97	9.48
SEM	0.65	0.59	0.05	0.16	0.24	0.62	0.32	0.05	0.11
P-value									
F	0.945	0.070	0.797	0.800	0.874	0.839	0.953	0.055	0.540
B_{12}	0.446	0.942	0.652	0.483	0.384	0.448	0.597	0.143	0.992
F × B_{12}	0.415	0.916	0.758	0.162	0.338	0.443	0.370	0.074	0.520

ตารางที่ 8 ผลของการเสริมกรดโฟลิคร่วมกับวิตามินบี 12 ต่อความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนและฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในการทดลองที่ 2

ระดับการเสริม (มก./กก. อาหาร)	ฟอสฟาทิดิลโคลีน	ฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีน
	มก./ก.ไข่แดง	
กรดโฟลิค		
0	169	53.7
4	170	54.1
8	171	53.5
วิตามินบี 12		
0	170	53.3
0.02	170	54.0
0.04	170	54.2
กรดโฟลิค × วิตามินบี 12		
0 × 0	170	52.9
0 × 0.02	169	53.8
0 × 0.04	169	54.4
4 × 0	170	53.5
4 × 0.02	170	54.3
4 × 0.04	170	54.5
8 × 0	171	53.3
8 × 0.02	171	53.8
8 × 0.04	170	53.5
SEM	0.17	0.18
P-value		
กรดโฟลิค	0.148	0.408
วิตามินบี 12	0.302	0.105
กรดโฟลิค × วิตามินบี 12	0.738	0.790

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 5

วิจารณ์ และสรุป

วิจารณ์ผลการทดลองที่ 1

คุณค่าทางโภชนะของอาหารทดลองที่ 1

ค่าโภชนะของอาหารทดลองที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีพบว่าปริมาณโปรตีน มีความแปรปรวนในอาหารกลุ่มที่เสริมโคลีนระดับ 1,000 มก./มก.อาหาร โดยมีค่าโปรตีนเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มทดลองอื่น และระดับแคลเซียม 5.65 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าการแนะนำของสายพันธุ์ที่ระดับ 3.80 เปอร์เซ็นต์

สำหรับคุณค่าทางโภชนะด้านอื่น ๆ พบว่ามีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย การที่เกิดความแปรปรวนของค่าที่วิเคราะห์ได้ เกิดจากความผิดพลาดในการสุ่มตัวอย่างอาหารที่ไม่ถูกต้องคือสุ่มเพียง 1 ถุง จากจำนวน 36 ถุงของแต่ละกลุ่มทดลอง โดย AOAC (1997) รายงานว่าถ้าอาหารมีมากกว่า 11 ถุงควรสุ่มอย่างน้อย 10 ถุง และไม่ใช่ความผิดพลาดจากการผสมเพราะมีการควบคุมการผสมอาหารพื้นฐานที่ใช้ในการทดลองที่ 1 อย่างรัดกุมเพื่อให้เกิดสม่ำเสมอของอาหารพื้นฐานที่ใช้ดังที่กล่าวไว้ในอุปกรณ์และวิธีการ อย่างไรก็ตามอาหารทดลองทั้ง 5 สูตรได้มีการคำนวณให้ระดับโภชนะสูงกว่าความต้องการของมาตรฐานไก่สายพันธุ์ อีซ่า บราวน์ (A Hendrix Genetics Company, 2009-10) ถึงแม้ว่าระดับโปรตีนจะมีความแปรปรวนและ แคลเซียมมีระดับสูง แต่ไม่พบความแตกต่างของทุกพารามิเตอร์ของสมรรถภาพการผลิต และคุณภาพไข่ที่ทำการตรวจวัด

ปริมาณโคลีนในอาหารที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีของอาหารทั้ง 5 สูตรมีค่าเท่ากับ 1,138, 2,447, 2,670, 3,261 และ 3,577 มก./กก.อาหาร เทียบกับค่าที่ได้จากการคำนวณคือ 1,402, 2,405, 2904, 3,403 และ 3,902 มก./กก.อาหาร ตามลำดับ ค่าโคลีนที่นำมาคำนวณได้มาจากค่าโคลีนในวัตถุดิบอาหารอ้างอิงจาก NRC (1994) และ Zhai และคณะ (2013) รวมกับปริมาณโคลีนคลอไรด์ที่ทำการเสริมในอาหาร ซึ่งจะเห็นได้ว่าค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีมีค่าต่ำกว่าการคำนวณในทุกกลุ่มทดลอง ยกเว้นในกลุ่มที่เสริมโคลีนระดับ 1,000 มก./กก.อาหาร ซึ่งความแตกต่างอยู่ที่ 18.88, 1.72, 8.07, 4.16 และ 8.32 เปอร์เซ็นต์เทียบกับค่าที่คำนวณได้ EFSA (2011) รายงาน

ว่า ปริมาณโคลีนคลอไรด์ที่ทำการเสริมในอาหารมีความแปรปรวนอยู่ที่ระดับ 6 เปอร์เซ็นต์ ในส่วนที่เกินจาก 6 เปอร์เซ็นต์ นั้นเกิดจากการสุ่มตัวอย่างที่ผิดพลาดดังที่กล่าวมาแล้ว อย่างไรก็ตามระดับโคลีนที่ทำการตรวจวิเคราะห์ได้มีค่าเพิ่มสูงขึ้นตามปริมาณโคลีนคลอไรด์ที่เสริมในอาหาร

สมรรถภาพการผลิต

ผลของน้ำหนักเปลี่ยนแปลง อัตราการตาย ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่เฉลี่ยต่อฟอง มวลไข่ ปริมาณอาหารที่กิน อัตราการเปลี่ยนอาหารต่อน.น.มวลไข่ และต้นทุนค่าอาหารต่อการผลิตไข่ 1 กก. ในกลุ่มที่ได้รับอาหารทดลองทุกกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ถึงแม้ว่าในกลุ่มที่เสริมโคลีนระดับ 1,500 มก./กก.อาหารจะพบว่ามีอัตราการตาย 0.60% แต่ระดับดังกล่าวต่ำกว่าระดับมาตรฐานของสายพันธุ์อยู่ที่ 2.5 – 3.1 % ในไก่ไข่อายุ 44 – 49 สัปดาห์ (A Hendrix Genetics Company, 2009-10)

Ringrose และ Davis (1946) และ Leeson และ Summers (2001) รายงานว่าไก่ระยะให้ไข่มีการสังเคราะห์โคลีนเพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย ถึงแม้ว่าจะได้รับอาหารที่มีโคลีนต่ำ สอดคล้องกับการศึกษาของ Lucus และคณะ (1946) ที่ได้เปรียบเทียบการให้อาหารโคลีนระดับต่ำ (300 มก./กก. อาหาร) กับอาหารที่มีโคลีนระดับสูง (2,100 มก./กก. อาหาร) ในไก่พันธุ์ และไม่พบความแตกต่างในผลผลิตไข่ และน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลง อย่างไรก็ตามการศึกษาผลของโคลีนในระดับสูงมากกว่าความต้องการของไก่ไข่ได้มีการรายงานโดย Crawford และคณะ (1968a) ซึ่งได้วิเคราะห์ระดับโคลีนในอาหารที่ทำการศึกษาพบว่าอยู่ในช่วง 595 -5,729 มก./กก.อาหาร และพบว่าระดับโคลีนในอาหารไม่ส่งผลเสียต่อผลผลิตไข่ สอดคล้องกับการศึกษาของ Zhai และคณะ (2013) ที่ทำการเสริมโคลีนในระดับสูงถึง 6,800 มก./กก.อาหาร และไม่พบความแตกต่างของ การกินได้ ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ มวลไข่ อัตราการเปลี่ยนอาหาร ($P>0.05$) อย่างไรก็ตามทั้ง Crawford และคณะ (1968a) และ Zhai และคณะ (2013) กล่าวว่า อาหารที่มีโคลีนระดับต่ำ หรืออาหารที่ไม่ได้เสริมโคลีนนั้นสามารถรักษาสมรรถภาพการผลิตของไก่ไข่ให้อยู่ในระดับปกติได้

อย่างไรก็ตามการเสริมโคลีนในอาหารมีความจำเป็นในกรณีที่อาหารมีระดับกรดแอมิโนเมทไธโอนีนไม่เพียงพอ เนื่องจากโคลีนมีความสำคัญในการให้หมู่เมทิลในกระบวนการสังเคราะห์กรดแอมิโนเมทไธโอนีนผ่านการเติมหมู่เมทิลให้กับโฮโมซิสเตอีน (Mcdowell, 2000; Leeson and summers, 2001; Wurtman, 2007) จากการศึกษาของ Welch และ Couch (1954) พบว่าการเสริมโคลีนร่วมกับโฮโมซิสเตอีนในอาหารที่มีกรดแอมิโนเมทไธโอนีนระดับต่ำทำให้ผลผลิตไข่สูงขึ้นได้เมื่อเทียบกับการไม่เสริม แต่ให้ผลไม่แตกต่างกับอาหารที่มีกรดแอมิโนเมทไธโอนีนในระดับปกติ

นอกจากนั้น Gish และคณะ (1948) รายงานว่าการเสริมโคลีนในอาหารที่มีค่าโภชนะอื่น ๆ อย่างเพียงพอต่อความต้องการไม่พบความแตกต่างในด้านของสมรรถภาพการผลิต สำหรับการศึกษาครั้งนี้ ระดับโภชนะในอาหารถูกคำนวณให้เพียงพอต่อความต้องการตามมาตรฐานสายพันธุ์ ดังนั้นการเสริมโคลีนในทุกระดับจึงไม่ส่งผลต่อสมรรถภาพการผลิต (P>0.05)

คุณภาพไข่

การศึกษาผลของโคลีนต่อคุณภาพไข่ค่อนข้างมีอยู่อย่างจำกัด จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าการเสริมโคลีนในระดับสูงไม่ส่งผลต่อ ค่าฮอกยูนิต สีไข่แดง น้ำหนักไข่แดง น้ำหนักไข่ขาว และน้ำหนักเปลือก (P>0.05) รวมทั้งไม่ส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์ไข่แดง ไข่ขาว และเปลือกไข่ Alvarenga และคณะ (2011) และ Cole และคณะ (2012) รายงานว่าโคลีนมีความสำคัญโดยเป็นองค์ประกอบของฟอสฟาทิดิลโคลีนที่สร้างจากตับและถูกส่งเข้าไปสะสมในไข่แดง ถึงแม้ว่าในไก่ไข่ไม่จำเป็นต้องเสริมโคลีนในอาหาร แต่ในการผลิตอาหารไก่ไข่โดยทั่วไปมีการเสริมโคลีนในรูปโคลีนคลอไรด์เพื่อป้องกันปัญหาไขมันพอกตับ เนื่องจากโคลีนเป็นองค์ประกอบของฟอสโฟลิปิดที่ขนส่งลิปิดจากตับไปเซลล์ต่าง ๆ รวมทั้งไข่แดง (Mcdowell, 2000; Pour et al., 2014) อย่างไรก็ตามการเสริมโคลีนที่ระดับ 889 ถึง 2,222 มก./กก.อาหาร ไม่ส่งผลต่อค่าฮอกยูนิต และน้ำหนักไข่ (Daghir et al., 1960) สำหรับคุณภาพไข่ด้านอื่นๆ Zhai และคณะ (2013) รายงานว่าการเสริมโคลีนในระดับสูงถึง 6,800 มก./กก. อาหาร ในไก่ไข่ช่วงอายุ 20 ถึง 58 สัปดาห์ ไม่ส่งผลต่อ ค่าฮอกยูนิต น้ำหนักไข่แดง น้ำหนักไข่ขาว จากการศึกษาครั้งนี้ที่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติของทุกตัวชี้วัดของคุณภาพไข่ที่ทำการตรวจวัดเป็นผลมาจากระดับโภชนะในอาหารเพียงพอต่อกระบวนการสร้างไข่

อย่างไรก็ตาม Ward และคณะ 2009 รายงานว่าการเสริมโคลีนในระดับสูงจะทำให้เกิดกลิ่นคาวปลาในไข่ไก่ได้ โดยเกิดจากการสะสมของสารที่มีชื่อว่าไตรเมทิลเอมีน และเกิดเฉพาะในไก่ที่มีการมิวเทชันของยีนที่ควบคุมเอนไซม์ flavin-monooxygenase 3 (FMO3) ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนไตรเมทิลเอมีนเป็นสารที่ไร้กลิ่น และยังได้รายงานว่าการเสริมโคลีนที่ระดับ 550 – 2,220 มก./กก. อาหารในไก่ที่มียีนมิวเทชัน ไม่พบกลิ่นคาวปลาในไข่ แต่เมื่อ Wang และคณะ (2012) เสริมโคลีนในระดับที่สูงขึ้นเป็น 2,960 มก./กก.อาหาร ทำให้เกิดกลิ่นคาวปลาในไข่เฉพาะในไก่ที่ยีนเกิดการมิวเทชันเท่านั้น แต่ไม่ส่งผลในไก่ที่มียีนปกติ ซึ่งระดับโคลีนที่เสริมในการทดลองครั้งนี้ต่ำกว่าระดับดังกล่าว จึงไม่น่าเกิดกลิ่นคาวในไข่ไก่

ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีน และฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในไข่แดง

ฟอสฟาทิดิลโคลีนในตับสามารถสังเคราะห์ผ่านได้ 2 กลไกคือ 1. CDP-Choline pathway ที่ต้องการโคลีนเป็นสารตั้งต้นในกระบวนการสังเคราะห์ และ 2. PEMT pathway ที่ต้องการหมู่เมทิลจากโคลีนในการเปลี่ยนฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีน เป็นฟอสฟาทิดิลโคลีน (Wurtman, 2007) สำหรับการสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนพบว่ามีการสังเคราะห์ที่ตับผ่าน 2 กลไกหลัก ๆ คือ 1. การเปลี่ยนฟอสฟาทิดิลเซอรีนเป็นฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในไมโทคอนเดรียผ่านการทำงานของเอนไซม์ phosphatidylserine decarboxylase และ 2. CDP-ethanolamine pathway ที่ต้องการเอทาโนลามีนเป็นสารตั้งต้นในกระบวนการสังเคราะห์ ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวเกิดขึ้นภายในเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม และเยื่อหุ้มนิวเคลียส (Vance, 2008) ฟอสโฟลิปิดทั้ง 2 ชนิดถูกผลิตจากตับและส่งเข้าสู่ไข่แดงในรูปของ VLDLy และไวเทลโลจีนิน (Alvarenga et al., 2011)

ผลของการเสริมโคลีนต่อความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงพบว่ามีการศึกษาอย่างจำกัดที่ระดับสูงสุดเพียง 1,000 มก./กก.อาหารเท่านั้น โดย Tsiangbe และคณะ (1988) เสริมโคลีนในระดับ 1,000 มก./กก.อาหาร พบว่าไม่ส่งผลต่อความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดง ($P>0.05$) แต่กลับพบว่าความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในไข่แดงลดลงจาก 40 เป็น 34 มก./ก. หรือลดลงประมาณ 15% ($P<0.05$) เมื่อเทียบเป็นสัดส่วนฟอสฟาทิดิลโคลีนต่อฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีน พบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.001$) โดยเพิ่มขึ้นจาก 3.6 เป็น 4.7 ก./ก. อย่างไรก็ตามการศึกษาที่ได้ขัดแย้งกับงานศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่าการเสริมโคลีนในระดับ 1,000 มก./กก.อาหาร ทำให้ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงเพิ่มขึ้นจาก 158 เป็น 164 มก./ก. หรือเพิ่มขึ้น 3.80% ($P<0.0001$) แต่ไม่ส่งผลต่อความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีน ความแตกต่างที่เกิดขึ้นอาจมาจากระดับโคลีนในอาหารพื้นฐานที่ต่างกันเนื่องจากระดับโคลีนที่วิเคราะห์ในอาหารพื้นฐานของ Tsiangbe และคณะ (1988) อยู่ที่ระดับ 1,041 มก./กก.อาหาร ซึ่งน้อยว่าการศึกษาในครั้งนี้อยู่ที่ระดับ 1,138 มก./กก.อาหาร นอกจากนั้นช่วงอายุแม่ไก่ที่ทำการศึกษาต่างกัน ทำให้ผลการทดลองที่ได้ต่างกันด้วย สนับสนุนโดย Wurtman และคณะ 2007 ที่รายงานว่าสัตว์ที่อายุต่างกันมีการใช้ประโยชน์ได้ของโคลีนที่ต่างกัน จึงส่งผลให้การสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีนต่างกัน โดย Tsiangbe และคณะ (1988) ได้ทำการศึกษาในช่วงแม่ไก่ให้ผลผลิตไข่สูงสุด พบว่าในช่วงดังกล่าวแม่ไก่จะมีการสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีนเพิ่มขึ้น แต่ความเข้มข้นฟอสฟาทิดิลโคลีนไม่

เพิ่มขึ้นอาจมาจากในช่วงการให้ผลผลิตไข่สูง ความต้องการฟอสฟาทิดิลโคลีนสูงเพื่อสะสมในไข่แดงจากการเพิ่มจำนวนไข่ที่มากขึ้นในช่วงนั้น จึงไม่ทำให้ความเข้มข้นฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงเพิ่มขึ้น แต่ในการศึกษาครั้งนี้ทำหลังจากช่วงแม่ไก่ให้ผลผลิตไข่สูงสุด คือที่ 49 สัปดาห์ ซึ่งปริมาณผลผลิตไข่ลดลงจึงทำให้เกิดการสะสมฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงเพิ่มสูงขึ้น Crawford และคณะ (1,968b) รายงานว่าโคลีนที่มากกว่าความต้องการของร่างกายจะถูกนำมาสังเคราะห์เป็นฟอสโฟลิปิดในตับ และส่งเข้าสะสมในไข่ เนื่องจากโคลีนมีความสำคัญในการเจริญของตัวอ่อนในไข่ (Leeson and summers, 2001) นอกจากนั้นฟอสฟาทิดิลโคลีนยังถูกส่งไปยังเนื้อเยื่อสมองเพื่อเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สฟิงโกไมอีลิน (Gibellini and Smith, 2010) หรือโคลีนอาจถูกใช้ไปผ่านเส้นทางอื่น ๆ เช่นการนำไปสังเคราะห์เป็นกรดแอมิโนเมทไธโอนีน และคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นต้น เพราะไม่พบการสะสมของโคลีนในไต ซาก และมูล ที่มีการเสริมโคลีนในระดับสูงจากรายงานของ Crawford และคณะ (1,968a,b)

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าการเสริมโคลีนที่เพิ่มขึ้นสามารถทำให้ฟอสฟาทิดิลโคลีนเพิ่มขึ้นได้ และเพิ่มสูงสุดที่ระดับการเสริมโคลีนที่ระดับ 1,500 มก./กก.อาหาร การเสริมโคลีนในระดับที่สูงขึ้นไม่ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ระดับ 2,500 มก./กก.อาหาร กลับพบว่าทำให้ฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่ลดลงเมื่อเทียบกับการเสริมโคลีนที่ระดับ 1,500 มก./กก.อาหาร ทั้งนี้ Wurtman และคณะ 2007 อธิบายว่าโคลีนที่มากเกินความต้องการถูกนำไปสังเคราะห์เป็นฟอสฟาทิดิลโคลีนผ่าน CDP-choline pathway และ/หรือโคลีนส่วนเกินถูกออกซิไดซ์เป็นบีเทน โดยบีเทนที่เกิดขึ้นจะทำหน้าที่ในการเติมหมู่เมทิลให้กับกรดแอมิโนเมทไธโอนีนจนได้เป็น S-adenosylmethionine (SAM) ที่มีความสำคัญในการเติมหมู่เมทิลให้ฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนจนได้เป็นฟอสฟาทิดิลโคลีนผ่าน PEMT pathway Mason (2013) รายงานว่าหลังจาก SAM ทำหน้าที่ในการเติมหมู่เมทิลให้กับปฏิกิริยาต่าง ๆ แล้ว SAM จะถูกเปลี่ยนเป็น S-adenosylhomocysteine (SAH) ซึ่งการสะสม SAH ที่เพิ่มขึ้นภายในเซลล์จะเป็นตัวยับยั้งปฏิกิริยาการเติมหมู่เมทิลจาก SAM สอดคล้องกับ Hoffman และคณะ (1980) ที่ชี้ให้เห็นว่า หลังจากการเติมหมู่เมทิลโดย SAM จะทำให้ระดับโฮโมซิสเตอีนเพิ่มขึ้น ซึ่งระดับที่เพิ่มขึ้นนี้จะเป็นตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ SAH hydrolase ที่มีความสำคัญในการเปลี่ยน SAH เป็นโฮโมซิสเตอีน จึงส่งผลให้เกิดการสะสม SAH ขึ้นภายในเซลล์ โดยการเพิ่มขึ้นของ SAH นั้นจะทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Betaine-homocysteinemethyltransferase ในการส่งผ่านหมู่เมทิลจากบีเทนให้กับโฮโมซิสเตอีน

และเขายังพิสูจน์ให้เห็นว่าระดับ SAH ที่เพิ่มขึ้นทำให้การสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีนในตับหนูลดลง นอกจากนั้นยังพบว่าฟอสฟาทิดิลโคลีนสามารถแลกเปลี่ยนโคลีนกับเซอรีนเพื่อสังเคราะห์เป็นฟอสฟาทิดิลเซอรีนที่มีความสำคัญในการเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนผ่านการดึงหมู่คาร์บอกซิลออกจากฟอสฟาทิดิลเซอรีน (Vance and Tasseva, 2012) สอดคล้องกับการศึกษาของ Kuge และคณะ (1986) ที่พิสูจน์ว่า ฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในเซลล์รังไข่หนูที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการเพิ่มขึ้นหากได้รับการเสริมฟอสฟาทิดิลโคลีน จากคำอธิบายดังกล่าวข้างต้นสอดคล้องกับผลที่ได้ของฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีน

การเสริมโคลีนที่ระดับ 1,500 และ 2,000 มก./กก.อาหารทำให้ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนลดลงอย่างมีนัยสำคัญยิ่งเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่เหลือ ($P<0.0001$) โดยที่การเสริมโคลีนที่ระดับ 1,500 มก./กก.อาหาร ทำให้ระดับฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนลดต่ำลงที่สุด (53.7 มก./ก.ไข่แดง) การที่ฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนไม่สามารถลดลงมากกว่านี้เมื่อเสริมโคลีนเพิ่มขึ้น เนื่องจากฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนมีความสำคัญต่อเซลล์ โดยระดับฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนภายในเซลล์จะมีการรักษาระดับไม่ให้ลดไปกว่าระดับวิกฤติ หากมีการลดลงต่ำกว่าระดับวิกฤติ จะกระตุ้นให้มีการสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนโดยมีฟอสฟาทิดิลเซอรีนเป็นสารตั้งต้นดังที่กล่าวไว้ข้างต้น (Vance and Tasseva, 2012) การลดระดับของฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนส่งผลต่อสัณฐานของไมโทคอนเดรียโดยทำให้การทำงานของไมโทคอนเดรียดำเนินไปอย่างผิดปกติ และเป็นผลให้เกิดการตายของเอ็มบริโอในหนู (Steenbergen et al., 2005) นอกจากนั้นฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนยังทำหน้าที่ในการให้เอทาโนลามีนกับ glysylphosphatidylinositol ที่เชื่อมอยู่กับโปรตีนที่ทำหน้าที่ส่งสัญญาณบนเยื่อหุ้มเซลล์ (Menon and Stevens, 1992) โดย glysylphosphatidylinositol มีความสำคัญต่อการเคลื่อนที่ของฟอสโฟลิปิดในเยื่อหุ้มเซลล์ และปริมาณของโมโนแซคคาไรด์บนเยื่อหุ้มเซลล์ที่จะส่งผลต่อการแบ่งเซลล์ (Paulick et al., 2007) หรืออาจกล่าวได้ว่าเมื่อใดก็ตามที่ฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนลดลงจนถึงจุดวิกฤตที่จำเป็นต้องมีในเซลล์ จะมีการสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนเพิ่มขึ้นผ่านสารตั้งต้นฟอสฟาทิดิลเซอรีนดังที่กล่าวมาแล้ว

ผลจากการทดลองที่ 1 สรุปได้ว่าการเสริมโคลีนที่ระดับ 1,500 มก./กก.อาหารในไก่ไข่อายุ 49 สัปดาห์ให้ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนสูงที่สุด และความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนต่ำสุด โดยกลไกการสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีนในตับจะถูกควบคุมจาก

ระดับของ SAH ที่เพิ่มขึ้น ขณะที่ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในไข่แดงถูกควบคุมโดยระดับฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนภายในเซลล์ตับไม่ให้ลดไปกว่าระดับวิกฤติ

วิจารณ์ผลการทดลองที่ 2

คุณค่าทางโภชนะของอาหารทดลองที่ 2

อาหารพื้นฐานสำหรับการทดลองที่ 2 ที่ใช้ คืออาหารสูตรเดียวกันกับที่ใช้ในกลุ่มทดลองที่ 3 ของการทดลองที่ 1 ที่มีการเสริมระดับโคลีนสูงกว่าคำแนะนำของสายพันธุ์ 1,500 มก./กก.อาหาร ซึ่งเป็นระดับที่ทำให้การสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีนสูงที่สุดในการทดลองที่ 1 สำหรับค่าโภชนะของอาหารพื้นฐานพบว่ามีค่าใกล้เคียงกับการทดลองที่ 1 ยกเว้นเถ้า และแคลเซียมที่มีปริมาณน้อยกว่า

การวิเคราะห์ระดับโคลีนในอาหารพื้นฐานพบว่า มีโคลีนอยู่ที่ระดับ 2,712 มก./กก. อาหาร ซึ่งมีค่าลดลงเมื่อเทียบกับการคำนวณคือ 2,904 มก./กก.อาหาร หรือลดลงเท่ากับ 6.61 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับรายงานของ EFSA (2011) ที่พบว่าปริมาณโคลีนที่ทำการเสริมในอาหารมีความแปรปรวนอยู่ที่ระดับ 6 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามพบว่า ระดับโคลีนในอาหารพื้นฐานที่ใช้ในการทดลองที่ 2 และอาหารกลุ่มที่ 3 ในการทดลองที่ 1 พบว่ามีค่าใกล้เคียงกันคืออยู่ที่ระดับ 2,712 และ 2,670 มก./กก.อาหาร ตามลำดับ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สมรรถภาพการผลิต

การเสริมกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ในอาหารพื้นฐานที่เสริมโคลีนระดับ 1,500 มก./กก. อาหาร ไม่ส่งผลต่อสมรรถภาพการผลิตในไก่ไข่ทุกด้าน ($P>0.05$) อัตราการตายของการทดลองครั้งนี้อยู่ในช่วง 0 - 3.13 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอัตราดังกล่าวยังต่ำกว่าคำแนะนำของสายพันธุ์อยู่ที่ 5.8 – 6.7 เปอร์เซ็นต์ในไก่ไข่ช่วงอายุ 72 – 79 สัปดาห์ (A Hendrix Genetics Company, 2009-10)

ผลของการเสริมกรดโฟลิคได้มีการรายงานโดย Bunchasak และ Kachana (2009) พบว่าการเสริมกรดโฟลิคที่ระดับ 0, 0.5, 4 และ 10 มก./กก.อาหาร ไม่ส่งผลต่อ ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ และการกินได้ของไก่ สอดคล้องกับผลงานของสมปอง (2004) ที่เสริม กรดโฟลิคที่ระดับเดียวกันและพบว่าไม่ส่งผลต่อ อัตราการตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นไข่ 1 กก. ต้นทุนค่าอาหารต่อการผลิตไข่ 1 กก. และมวลไข่ และสนับสนุนโดยการศึกษาของ Hebert และคณะ (2005) ที่เสริมกรดโฟลิคระดับ 0 ถึง 128 มก./กก.อาหาร และ Tactacan และคณะ (2012) ที่เสริมกรดโฟลิคระดับ 0 ถึง 100 มก./

กก. อาหาร สำหรับการเสริมวิตามินบี 12 Bunchasak และ Kachana (2009) และสมปอง (2004) เสริมวิตามินบี 12 ที่ระดับเดียวกันคือ 0, 0.01 และ 0.08 มก./กก.อาหาร ในอาหารไก่ไข่ พบว่าไม่ส่งผลต่อ ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ การกินได้ อัตราการตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นไข่ 1 กก. ต้นทุนค่าอาหารต่อการผลิตไข่ 1 กก. น้ำหนักไข่ และมวลไข่ เช่นกัน

Mcdowell (2000) รายงานว่า กรดโฟลิคและวิตามินบี 12 มีความสำคัญร่วมกันในการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิกที่จำเป็นในการแบ่งเซลล์ โดยความต้องการกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ลดลงตามอายุเนื่องจากอัตราการเจริญเติบโตที่ลดลง สำหรับไก่ในระยะให้ไข่ Leeson and summers (2001) ได้รายงานว่า ไก่ไข่มีการสังเคราะห์โคลีนเพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย ดังนั้นโคลีน กรดโฟลิค และวิตามินบี 12 จึงไม่จำเป็นต้องมีการเสริมในอาหารไก่ไข่ สอดคล้องกับการศึกษาของ Keshavarz (2003) พบว่าอาหารที่มีโคลีน 1,135 กรดโฟลิค 1.08 และวิตามินบี 12 0.006 มก./กก. อาหาร ให้ผลไม่ต่างกับอาหารพื้นฐานที่ไม่เสริมวิตามินทั้ง 3 ตัว ในเรื่องของ ผลผลิตไข่ น้ำหนักไข่ มวลไข่ การกินได้ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นไข่ และน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลง (P>0.05) และการศึกษาของ Rajaleskhmy (2010) พบว่าอาหารที่มีการเสริมโคลีน กรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ที่ระดับ 1,000, 4 และ 0.02 มก./กก.อาหาร ตามลำดับให้ผลไม่แตกต่างกับอาหารพื้นฐานที่ไม่ได้เสริมวิตามินทั้ง 3 ตัว ในเรื่องของผลผลิตไข่ การกินได้ และน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลง (P>0.05) การศึกษาครั้งนี้ให้ผลไม่แตกต่างเช่นกัน (P>0.05) แต่ขัดแย้งกับสมปอง (2004) ที่พบว่า การเสริมกรดโฟลิคร่วมกับวิตามินบี 12 ที่ระดับ 0.5×0, 4×0.01 และ 10×0.08 มก./กก.อาหาร ทำให้น้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับอาหารพื้นฐานที่ไม่เสริมกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 เนื่องจากอาหารพื้นฐานใช้วัตถุดิบจากพืชล้วน และไม่มีการเติมกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ในพรีมิกซ์ ส่งผลให้ระดับวิตามินทั้ง 2 ตัวต่ำกว่าการทดลองครั้งนี้ เมื่อมีการเสริมกรดโฟลิคร่วมกับวิตามินบี 12 จึงช่วยให้เกิดการสังเคราะห์กรดแอมิเมทไธโอนีนจากโฮโมซิสเตอีน ซึ่งเป็นการเพิ่มกรดแอมิโนที่จำเป็นในกระบวนการสร้างเนื้อเยื่อจึงเห็นความแตกต่างของน้ำหนักตัว เมื่อเทียบกับอาหารพื้นฐาน ขณะที่การทดลองครั้งนี้อาหารพื้นฐานมีการเสริมวิตามินทั้ง 2 ตัวในพรีมิกซ์เพื่อให้ระดับวิตามินเพียงพอต่อคำแนะนำของสายพันธุ์

คุณภาพไข่

การเสริมกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ในอาหารพื้นฐานที่เสริมโคลีน 1,500 มก./กก.อาหาร พบว่าไม่ส่งผลต่อคุณภาพไข่ (P>0.05) สมปอง (2004) เสริมกรดโฟลิคในระดับ 0 ถึง 10 มก./กก. อาหาร ร่วมกับวิตามินบี 12 ที่ระดับ 0 ถึง 0.08 มก./กก.อาหาร พบว่าไม่ส่งผลต่อ สีไข่แดง ความสูงไข่ขาว ค่าฮอกยูนิต เปอร์เซ็นต์ไข่แดง เปอร์เซ็นต์เปลือกไข่ (P>0.05) แต่พบว่า การเสริมวิตามินบี 12

ในระดับ 0.08 มก./กก.อาหาร ทำให้เปอร์เซ็นต์ไข่ขาวเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับการไม่เสริม (P=0.03) และไม่พบความแตกต่างที่ระดับต่ำกว่านี้ แต่การศึกษาครั้งนี้เสริมวิตามินบี 12 สูงสุดที่ระดับ 0.04 มก./กก.อาหาร จึงยังไม่พบการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์ไข่ขาว สนับสนุนโดยการศึกษาของ Rajaleskhmy (2010) พบว่าอาหารพื้นฐานที่เสริมโคลีน 1,000 มก. ร่วมกับกรดโฟลิค 4 มก. และวิตามินบี 12 0.02 มก./กก.อาหาร ไม่ส่งผลต่อน้ำหนักไข่ขาว (P=0.99) จากการศึกษาครั้งนี้ อาหารพื้นฐานมีการคำนวณระดับวิตามินทั้ง 2 ให้เพียงพอต่อความต้องการของสายพันธุ์เพื่อให้กระบวนการสร้างไข่ดำเนินไปเป็นปกติ การเสริมกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 จึงไม่ส่งผลต่อคุณภาพไข่ในทุกด้าน

ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีน และฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในไข่แดง

กรดโฟลิค และวิตามินบี 12 มีความสำคัญในการสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีนผ่าน PEMT pathway (Rajaleskhmy, 2010) โดยวิตามินบี 12 ในรูป methylcobalamin ทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ของเอนไซม์ methionine synthetase ที่ช่วยในการส่งผ่านหมู่เมทิลจากกรดโฟลิคให้กับโฮโมซิสเตอีน และได้กรดแอมิโนเมทไธโอนีนที่จำเป็นในกระบวนการสังเคราะห์ S-adenosylmethionine (SAM) ซึ่ง SAM สามารถทำหน้าที่ในการเติมหมู่เมทิลให้กับฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในกระบวนการสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีนอีกด้วย (Mcdowell, 2000; Wurtman, 2007) สอดคล้องกับรายงานของ Rajaleskhmy (2010) ที่พบว่าการเสริมกรดโฟลิค มีสหสัมพันธ์เชิงบวกกับความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงคือมีค่าเท่ากับ 0.63 (P<0.0001) และมีสหสัมพันธ์เชิงลบกับฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในไข่แดงคือมีค่าเท่ากับ 0.50 (P<0.0003) และวิตามินบี 12 มีสหสัมพันธ์เชิงบวกกับความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงคือมีค่าเท่ากับ 0.32 (P<0.02) และมีสหสัมพันธ์เชิงลบกับฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในไข่แดงคือมีค่าเท่ากับ 0.71 (P<0.0001)

จากการศึกษาครั้งนี้อาหารพื้นฐานที่มีการเสริมโคลีนระดับ 1,500 มก./กก.อาหาร และไม่มีการเติมกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 (อาหารทดลองกลุ่มที่ 1) พบว่ามีความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนเฉลี่ย 169 มก./ก. ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการเสริมโคลีนที่ระดับเดียวกันของการทดลองที่ 1 อยู่ที่ 170 มก./ก. ดังนั้นอายุไก่ไข่ที่ทำการศึกษาต่างกันในการทดลองที่ 1 และ 2 จึงไม่ส่งผลต่อการสะสมของฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดง และจากการศึกษา พบว่าการเสริมกรดโฟลิคร่วมกับวิตามินบี 12 ในอาหารพื้นฐานที่เสริมโคลีน 1,500 มก./กก. ไม่สามารถเพิ่มระดับฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงได้อีก (P>0.05) ขัดแย้งกับรายงานของ Rajaleskhmy (2010) ที่พบว่าการเสริมโคลีนที่ระดับ 1,000 มก./กก.อาหาร ร่วมกับกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ที่ระดับสูงสุดที่ 4 และ 0.02 มก./กก.อาหาร สามารถเพิ่มความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดง และลดฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีน (P<0.0001)

ความแตกต่างที่เกิดขึ้นเนื่องมาจากระดับโคลีนที่ทำการเสริมในอาหารต่างกันโดย Rajaleskhmy (2010) เสริมที่ระดับ 1,000 ซึ่งต่ำกว่าการศึกษาครั้งนี้ที่ระดับ 1,500 มก./กก.อาหาร โดยระดับโคลีนที่วิเคราะห์ในอาหารพื้นฐานอยู่ที่ 1,864 และ 2,712 มก./กก.อาหาร ตามลำดับ ดังนั้นการเสริมกรดโฟลิคกับวิตามินบี 12 ที่ระดับโคลีนต่ำลงจึงสามารถช่วยเพิ่มการสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีนได้มากกว่า และทำให้การสะสมของ SAH ไม่มากพอที่จะยับยั้งการสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีน ขณะเดียวกันความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในเซลล์ยังไม่ถึงระดับวิกฤติที่จำเป็นต้องมีในเซลล์จึงสามารถนำไปสังเคราะห์เป็นฟอสฟาทิดิลโคลีนผ่าน PEMT pathway ส่งผลให้ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนเพิ่มมากขึ้น และฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนลดลง ขณะที่การเสริมกรดโฟลิคและวิตามินบี 12 ในอาหารพื้นฐานที่เสริมโคลีนระดับ 1,500 มก./กก.อาหารที่ให้ฟอสฟาทิดิลโคลีนสูงสุดไม่สามารถเพิ่มฟอสฟาทิดิลโคลีนได้อีกเนื่องจาก SAH ในระดับสูงทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Methyltetrahydrofolate reductase ที่เปลี่ยนกรดโฟลิคให้อยู่ในรูปพร้อมที่จะให้หมู่เมทิลกับโฮโมซิสเตอีน จึงส่งผลให้กรดโฟลิคไม่ได้ทำหน้าที่ให้หมู่เมทิลภายในเซลล์ (Hoffman et al., 1980) เป็นที่น่าเสียดายที่การทดลองครั้งนี้ไม่ได้มีการตรวจวัดระดับกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ที่สะสมในไข่แดงหากไม่ได้ใช้ไปในการสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีน วิตามินทั้ง 2 ตัวจะสะสมในไข่เพิ่มขึ้นหรือไม่ เพราะมีรายงานว่า ถ้าในอาหารมีสารที่สามารถสังเคราะห์กรดแอมิโนเมทไธโอนีนมากพอ ไก่ไข่จะขับกรดโฟลิคที่มากเกินความต้องการไปสะสมในไข่แดง สอดคล้องกับการศึกษาของ Dickson และคณะ (2010) ที่พบว่าการเสริมกรดโฟลิคที่ระดับ 4 มก./กก.อาหารทำให้กรดโฟลิคในไข่แดงเพิ่มขึ้น ($P<0.005$) และ House และคณะ (2002) ที่พบว่าการเสริมกรดโฟลิคในระดับ 4 และ 8 มก./กก.อาหาร ทำให้กรดโฟลิคในไข่แดงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับการไม่เสริม ($P<0.05$) สำหรับวิตามินบี 12 Bunchasak และ kachana (2009) พบว่าการเสริมวิตามินบี 12 ที่ระดับ 0.01 และ0.08 มก./กก.อาหาร ไม่สามารถเพิ่มวิตามินบี 12 ในไข่แดงได้ เช่นเดียวกับสมปอง (2004) ทั้งนี้วิตามินบี 12 ส่วนเกินอาจถูกใช้ไปในการทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ด้านอื่น ๆ หรือเปลี่ยนเป็นรูปอื่นสะสมภายในเซลล์ เช่น adenosylcobalamin (Mcdowell, 2000) โดยวิตามินบี 12 ในรูป adenosylcobalamin ทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ของเอนไซม์ methylmalonyl-CoA mutase ที่เปลี่ยน L-methylmalonyl-CoA เป็น succinyl-CoA (Takahashi-Iniguez et al., 2012) และ leucine 2,3-aminomutase ที่ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์ลิวซีน จากเบต้า-ลิวซีน (Ward et al., 1987)

ในการศึกษาครั้งนี้การเสริมกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ไม่สามารถเพิ่มความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีน และลดฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนได้อีก จากการใช้อาหารพื้นฐานที่มีการเสริมโคลีนที่ระดับ 1,500 มก./กก. ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากระดับโคลีนดังกล่าว ทำให้การสะสมของ SAH ในเซลล์สูงในระดับที่สามารถยับยั้งการสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีนจากกรดโฟลิค และวิตามินบี 12

สรุปผลการทดลอง

การเสริมโคลีนสามารถเพิ่มการสังเคราะห์ฟอสฟาทิดิลโคลีน ผ่าน CDP-Choline pathway และ PEMT pathway โดยการเสริมโคลีนที่ระดับ 1,500 มก./กก.อาหาร ให้ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีนในไข่แดงได้สูงที่สุด ขณะที่ความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนต่ำที่สุด และการเสริมกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 เพิ่มเข้าไปในอาหารพื้นฐานที่เสริมโคลีนระดับ 1,500 มก./กก. อาหาร ไม่สามารถเพิ่มความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลโคลีน และลดความเข้มข้นของฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนในไข่แดงได้อีก ซึ่งกลไกการยับยั้งการสร้างฟอสฟาทิดิลโคลีน เกิดจากการเพิ่มขึ้นของการสะสม S-adenosylhomocysteine ในเซลล์ตับ ส่วนการลดลงของฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนถูกควบคุมโดยระดับฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนภายในเซลล์ และการเสริมโคลีน หรือเสริมร่วมกับกรดโฟลิค และวิตามินบี 12 ทุกระดับ ไม่ส่งผลเสียต่อสมรรถภาพการผลิต และคุณภาพไข่ในทุกพารามิเตอร์ที่ตรวจวัด รวมทั้งต้นทุนการผลิตด้วย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รายการอ้างอิง

กรมการแพทย์ 2012. รายงานสถิติโรค 2555 (Statistical Report 2012). สุรศักดิ์ ก้องเกียรติกุล (บรรณาธิการ) กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์คณะรัฐมนตรีและราชกิจจานุเบกษา. 113-115.

สมปอง คะชะนา 2004. อิทธิพลของโฟเลทและวิตามินบี 12 ต่อเมตาบอลิซึมของไขมันในไก่ไข่. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 101 หน้า.

สำนักงานนโยบายและยุทธศาสตร์ทางการค้าสินค้าเกษตร 2012. สถานการณ์ไข่ไก่. 9 หน้า.

A Hendrix Genetics Company 2009-10. ISA nutrition management guide. Institut de Selection Animale B.V. 21 pp.

Alvarenga RR, Zangeronimo MG, Pereira LJ, Rodrigues PB and Gomide EM 2011. Lipoprotein metabolism in poultry. World Poultry Sci J. 67: 431-440.

Ammerman CB, Baker DH and Lewis AJ 1995. Bioavailability of nutrients for animals. In, Academic Press. 413 pp.

Anton M, Nau F and Nys Y 2005. Bioactive egg components and their potential uses. the XIth European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products. 10 pp.

AOAC 1997. Official method 965.16. In: Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 16 ed. Gaithersburg, MD, USA.

AOAC 2005. Official method 999.14. In: Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 18 ed. Gaithersburg, MD, USA.

AOCS 2005. AOCs Ba 6a-05 Crude fiber analysis in feeds by filter Bag technique (For A2000,A2000I). In: Official methods and recommended practices of the AOCS. The American Oil Chemists' Society.

Bunchasak C and Kachana S 2009. Dietary folate and vitamin B12 supplementation and consequent vitamin deposition in chicken eggs. Trop Anim Health Prod. 41: 1583-1589.

Cohn JS, Kamili A, Wat E, Chung RWS and Tandy S 2010. Dietary phosphalipids and intestinal cholesterol absorption. Nutrients. 2: 116-127.

Cole LK, Vance JE and Vance DE 2012. Phosphatidylcholine biosynthesis and lipoprotein metabolism. Biochim Biophys Acta. 1821: 754-761.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Crawford JS, Griffith M, Teekell RA and Watts AB 1968a. Choline requirement and synthesis in laying hens. Poult Sci. 620-626.

Crawford JS, Teekell RA and Watts AB 1968b. Absorption and deposition of choline in laying hens. Poult Sci. 627-633.

Daghir NJ, Marison WW and Balloun SL 1960. Influence of dietary fat and choline on serum and egg yolk cholesterol in the laying chicken. Poult Sci. 1459-1466.

Dickson TM, Tactacan GB, Hebert K, Guenter W and House JD 2010. Optimization of folate deposition in eggs through dietary supplementation of folic acid over the entire production cycle of hy-line w36, hy-line w98 and cv20 laying hens. Appl. Poult. Res. 80-91.

Elkin RG 2006. Reducing shell egg cholesterol content. I. overview ,genetic approaches, and nutritional strategies. World Poultry Sci J. 62(04): 665-687.

European Food Safety Authority (EFSA) 2011. Scientific Opinion on safety and efficacy of choline chloride as a feed additive for all animal species1 EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP)2,3. EFSA J. 9(9): 1-15.

European Food Safety Authority (EFSA) 2012. Scientific opinion on the safety and efficacy of folic acid as a feed additive for all animal species. EFSA J. 10(5): 1-18.

Fagone P and Jackowski S 2013. Phosphatidylcholine and the CDP-choline cycle. Biochim Biophys Acta. 523-532.

Gibellini F and Smith TK 2010. The kennedy pathway-De Novo synthesis of phosphatidylethanolamine and phosphatidylcholine. Life. 62(6): 414-428.

Gish CL, Ktjmmerow FA and Payne LF 1948. Choline and ethanolamine requirements in the laying ration. Poult Sci. 28(2): 305-306.

Hebert K, House JD and Guenter W 2005. Effect of dietary folic acid supplementation on egg folate content and performance and folate status of two strains of laying hens. Poult Sci. 84: 1533-1538.

Hermier D, Forgez P, Williams J and Chapman MJ 1989. Alterations in plasma lipoproteins and apolipoproteins associated with estrogen-induced hyperlipidemia in the laying hen. Eur J biochem. 184: 109-118.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Heudi O, Kilinc T, Fontannaz P and Marley E 2006. Determination of vitamin B12 in food products and in premixes by reversed-phase high performance liquid chromatography and immunoaffinity extraction. J Chromatogr. 63-68.

Hoffman DR, Marion DW, Cornatzer WE and Duerre JA 1980. S-Adenosylmethionine and S-adenosylhomocystein metabolism in isolated rat liver. Effects of L-methionine, L-homocystein, and adenosine. J. Biol. Chem. 255: 10822-10827.

House JD, Braun K, Ballance DM, Connor CPO and Guenter W 2002. The enrichment of eggs with folic acid through supplementation of the laying hen diet. Poult Sci. 81: 1332-1337.

James I and Cleeman MD 2001. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NECP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult treatment panel III). JAMA. 285(19): 2486-2497.

Jiang Y, Noh SK and Koo SI 2001. Egg phosphatidylcholine decreases the lymphatic absorption of cholesterol in rats. J Nutr. 131: 2358-2363.

Jing Z, Xianmei HU, Tianxin W, Hao L and Qipeng Y 2012. HPLC analysis of egg yolk phosphatidylcholine by evaporative light scattering detector. Chin J Chem Eng. 20(4): 665-672.

Keshavarz K 2003. Effects of reducing dietary protein, methionine, choline, folic acid and vitamin b_{12} during the late stages of the egg production cycle on performance and eggshell quality Poult Sci. 82: 1407-1414.

Kuge O, Nishijima M and Akamatsu Y 1986. Phosphatidylserine Biosynthesis in cultured chinese hamster ovary cells. J. Biol. Chem. 261(13): 5795-5798.

Larbier M and Leclercq B 1994. Nutrition and feeding of poultry. Notthingham University Press: 169-184.

Leeson S and Summers JD 2001. Nutrition of the chicken. 4 ed. M.L. Scott and Associates: 292-311.

Lever M and Slow S 2010. The clinical significance of betaine, an osmolyte with a key role in methyl group metabolism. Clin Biochem. 43: 732-744.

Lucas HL, Norris LC and Heuser GF 1946. Observations on the choline requirements of hens. Poultry Sci. 25: 373-375.

Magil SG, Zeisel SH and Wurtman RJ 1981. Effects of ingesting soy or egg lecithins on serum choline, brain choline and brain acetylcholine. J Nutr. 111: 166-170.

Mason JB 2013. Biomarkers of Nutrient Exposure and Status in One-Carbon (Methyl) Metabolism. J. Nutr. 133(3): 941s-947s.

McDowell LR 2000. Vitamins in animal and human nutrition. 2 ed. Iowa State University Press: 479-596.

Menon AK and Stevens VL 1992. Phosphatidylethanolamine is the donor of the ethanolamine residue linking a glycosylphosphatidylinositol anchor to protein. J. Biol. Chem. 267(22).

Moriyama T, Uezu K, Matsumoto Y, Chung SY, Uezu E, Miyagi S, Uza M, Masuda Y, Kokubu T, Tanaka T and Yamamoto S 1996. Effects of dietary phosphatidylcholine on memory in memory deficient mice with low brain acethylcholine concentration. Life Sci. 58(6): 111-118.

National Research council (NRC) 1994. Nutrient requirments of Poultry. 9 ed. National Academy Press. 176 pp.

Palacios LE and Wang T 2005. Extraction of Egg-Yolk lecithin. J Am Oil Chem Soc. 82(8): 565-569.

Paulick MG, Forstner MB, Groves JT and Bertozzi CR 2007. A chemical approach to unraveling the biological function of the glycosylphosphatidylinositol anchor. PNAS J. 104(51): 20332-20337.

Pearson TA, Blair SN, Daniels SR, Eckel RH, Fair JM, Fortmann SP, Franklin BA, Goldstein LB, Greenland P, Grundy SM, Hong Y, Miller NH, Lauer RM, Ockene IS, Sacco RL, Sallis JF, JR, Smith SC, JR, Stone NJ and Taubert KA 2002. AHA guidelines for primary prevention of cardiovascular disease and stroke: 2002 update: Consensus panel guide to comprehensive risk reduction for adult patients without coronary or other atherosclerotic vascular diseases. Circ J. 106: 288-291.

Pour HA, Hamedani MA, Nasab ME, Babazadeh MH and Davoudi SM 2014. Effect of choline on performance quality of non-ruminant. Entomol. appl. sci. lett. 1(1): 14-18.

Rajalekshmy PK 2010. Effects of dietary choline, folic acid, vitamin B12 on laying hen performance, egg components and egg phospholipid composition. The Graduate College at the University of Nebraska. 130 pp.

Rhodes DN and Lea CH 1995. On the composition of hens' egg phospholipids. Biochem Biophys Res Commun. 65: 526-533.

Ringrose RC and Davis HA 1946. Choline in the nutrition of laying hens. Poult Sci. 25(6): 646-647.

SAS 2002. SAS/SAT Guide for personal computers. version 9ed. SAS Inst., Inc., Carry, NC.

Schneider WJ and Nimpf J 2003. LDL receptror relatives at the crossroad of endocytosis and signaling. Cell Mol Life Sci. 60: 892-903.

Sourkes TL 2004. The discovery of lecithin, the first phospholipid. Bull Hist Chem. 29(1): 9-15.

Steenbergen R, Nanowski TS, Beigneux A, Kulinski A, Young SG and Vance JE 2005. Disruption of the phosphatidylserine decarboxylase gene in mice causes embryonic lethality and mitochondrial defects. J. Biol. Chem. 280(48): 40032-40040.

Tactacan GB, Lecompte JCR, Karmin O and House JD 2011. Functional characterization of Folic acid transport in the intestine of the laying hen using the everted intestinal sac model. Poult Sci. 90: 83-90.

Tactacan GB, lecompte JCR, KO and House JD 2012. The adaptive transport of folic acid in the intestine of laying hens with increased supplementation of dietary folic acid Poult Sci. 91: 121-128.

Takahashi-Iniguez T, Garcia-Hernandez E, Arreguin-espinosa R and Flores ME 2012. Role of vitamin B12 on methylmalonyl-CoA mutase activity. J Zhejiang Univ Sci B. 13(6): 423-437.

International Organization for Standardization (ISO) 1998. ISO 9831: Animal feeding stuffs, animal products, and faeces or urine - Determination of gross calorific value - Bomb calorimeter method. Switzerland: ISO copyright office.

International Organization for Standardization (ISO) 2002. ISO 5984: Animal feeding stuffs - Determination of crude ash. Switzerland: ISO copyright office.

International Organization for Standardization (ISO) 2008a. ISO 11085: Cereals, cereals-based products and animal feeding stuffs - Determination of crude fat and total fat content by the randall extraction method. Switzerland: ISO copyright office.

International Organization for Standardization (ISO) 2008b. ISO 16634-1: Food products - determination of the total nitrogen content by combustion according to the dumus principle and calculation of the crude protein content - part 1: oilseeds and animal feeding stuffs. Switzerland: ISO copyright office.

International Organization for Standardization (ISO) 2009. ISO 27085: Animal feeding stuffs - Determination of calcium, sodium, phosphorus, magnesium, potassium, iron, zinc, copper, manganese, cobolt, molybdenum, arsenic, lead and cadmium by ICP-AES. Switzerland: ISO copyright office.

Tsiangbe VK, Cook ME, Harper AE and Sunde ML 1988. Alternations in phospholipid composition of Egg yolks from laying hens fed choline and methionine-supplemented diets. Poult Sci. 67: 1717-1724.

Vance DE and Vance J 1996. Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes. Vol. 31. In: Elsevier Science BV. 543 pp.

Vance JE 2008. Phosphatidylserine and phosphatidylethanolamine in mammalian cells: two metabolically related aminophospholipids. J Lipid Res. 49: 1377-1387.

Vance JE and Tassava G 2012. Formation and function of phosphatidylserine and phosphatidylethanolamine in mammalian cells. Biochim. Biophys. Acta. 1831: 543-554.

Vorlova L, Sieglova E, Karpiskova R and Kopriva V 2001. Cholesterol content in eggs during the laying period. Acta Vet Brno. 70: 387-390.

Wabel C 1998. Influence of lecithin on structure and stability of parenteral fat emulsions. 202.

Walzem RL, Hansen RJ, Williams DL and Hamilton RL 1999. Estrogen induction of VLDLy assembly in egg-laying hens. J Nutr. 467-472.

Wang J, Yue HY, Xia ZQ, Wu SG, Zhang HJ, Ji F, Xu L and Qi GH 2012. Effect of dietary choline supplementation under different flavin-containing monooxygenase 3 genotypes on trimethylamine metabolism in laying hens. Poult Sci. 91: 2221-2228.

Ward AK, Classen HL and Buchanan FC 2009. Fishy-egg tainting is recessively inherited when brown-shelled layers are fed canola meal. Poult Sci. 88: 714-721.

Ward NE, Jones J and Maurice V 1987. Essential role of adenosylcobalamin in leucine synthesis from beta-leucine the domestic chicken J. Nutr. 118(2): 159-164.

Welch BE and Couch JR 1954. Homocystine, Vitamin Bi2, Choline, and Methionine in the Nutrition of the Laying Fowl. Poult Sci. 34(1): 217-222.

Wurtman RJ, Cansev M and Ulus IH 2007. Choline and its products acetylcholine and phosphatidylcholine. Springer - Verlag Berlin Heidelberg. 59 pp.

Zeisel SH and Costa KA 2009. Choline: an essential nutrient for public health. Nutr Rev. 67(11): 615-623.

Zhai QH, Dong XF, Tong JM, Guo YM and Bao YE 2013. Long-term effects of choline on productive performance and quality of brown-egg laying hens. Poult Sci. 92: 1824-1829.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาว ณัฏฐนันท์ จนิษฐ เกิดเมื่อวันที่ 22 มกราคม พ.ศ.2533 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาจากโรงเรียนศึกษานารี และสำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สาขาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ เมื่อปีการศึกษา 2554 หลังจากสำเร็จการศึกษาได้เข้าทำงานตำแหน่งผู้ตรวจสอบระบบคุณภาพ บริษัท แมคคีย์ ฟู้ด เซอร์วิสเซส (ประเทศไทย) จำกัด เป็นระยะเวลา 1 ปี และได้รับทุนการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา จากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อศึกษาต่อในระดับปริญญามหาบัณฑิต สาขาอาหารสัตว์ภาควิชาสัตวบาล คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2556

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University