ผลของการเสริมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟในอาหารไก่ลูกผสมพื้นเมือง (ประดู่หางดำ) ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต สารต้านอนุมูลอิสระในเนื้ออก ปริมาณเชื้อจุลชีพในไส้ตัน สัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก และการแสดงออกของยีน

Effects of Coffee Silverskin Supplementation in Thai Native Crossbred Chicken (Pradu-Hangdum) Diets on Growth Performance, Antioxidant Status in Breast Meat, Microbial Population in Cecum, Intestinal Morphology, and Gene Expression

มงคล ยะไชย[1,3], อรณี ศรีนวล[2], พิมพร คำทวี[2], มนตรี ปัญญาทอง[2,3], ชมพูนุช หลำแสงกุล[2,3], นเรศ ปินตาเลิศ[4] และ วรรณพร ทะพิงค์แก[2,3*]

Mongkol Yachai[1,3], Orranee Srinual[2], Pimporn Khamtavee[2], Montri Punyatong[2,3], Chompunut Lumsangkul[2,3], Naret Pintalerd[4] and Wanaporn Tapingkae[2,3*]

บทคัดย่อ

ในกระบวนการการแปรรูปกาแฟเกิดผลพลอยได้จำนวนมาก โดยเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ (Coffee silver skin; CSS) ถือเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการคั่วเมล็ดกาแฟที่มีปริมาณมากและมีคุณค่าทางโภชนาการและคุณสมบัติเชิงหน้าที่สูง การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของการเสริมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟในอาหารไก่ลูกผสมพื้นเมือง (ประดู่หางดำ) ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต สารต้านอนุมูลอิสระในเนื้ออกไก่ ปริมาณเชื้อจุลชีพบางกลุ่มที่อาศัยอยู่ภายในไส้ตัน สัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก และการแสดงออกของยีนทั้งหมดในตับและลำไส้เล็ก ทดลองโดยใช้ไก่พื้นเมืองเพศผู้ จำนวน 600 ตัว อายุ 1 สัปดาห์ สุ่มให้อาหาร 6 กลุ่มทดลอง คือ กลุ่มควบคุม กลุ่มเสริม CSS ที่ระดับ 0.5, 1.0, 2.0 และ 4.0 กรัม/กิโลกรัมอาหาร และกลุ่มที่เสริมยาปฏิชีวนะในระดับกระตุ้นการเจริญเติบโต (AGPs) โดยแบ่งแต่ละกลุ่มการทดลองออกเป็น 10 ซ้ำ (10 ตัว/ซ้ำ) ไก่จะได้รับอาหารเป็นเวลา 12 สัปดาห์ จากผลการดำเนินงานพบว่า การเสริม CSS ที่ระดับ 2.0 กรัม/กิโลกรัมอาหาร สามารถเพิ่มสมรรถภาพการเจริญเติบโต ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในเนื้ออก และปรับปรุงสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) นอกจากนี้สามารถช่วยลดต้นทุนค่าอาหาร 4.09 บาท/กิโลกรัมน้ำหนักตัวเพิ่ม อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) และลดจำนวนเชื้อ *Salmonella* sp. และ *E. coli* ในไส้ตันของไก่พื้นเมืองได้เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (P<0.05) มากไปกว่านั้น ยังเพิ่มการแสดงออกของยีนต้านอนุมูลอิสระ และยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตในตับเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เสริมยาปฏิชีวนะ (P<0.05) โดยสรุปจาก

[1] คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

[2] ภาควิชาสัตวศาสตร์ และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

[3] ศูนย์วิจัยนวัตกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

[4] ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมที่สูง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

[1] Faculty of Animal Science and Technology, Maejo University, Chiang Mai Province, 50290

[2] Department of Animal and Aquatic Science, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai Province, 50200

[3] Innovative Agriculture Research Center, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai Province, 50200

[4] Highland Research and Training Center, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai Province, 50200

* Corresponding author: wanaporn.t@cmu.ac.th; orranee_sr@cmu.ac.th

ผลการวิจัยพบว่าการเสริม CSS ส่งผลดีต่อประสิทธิภาพการผลิตของไก่พื้นเมือง และสามารถใช้ทดแทน AGPs ในสูตรอาหารของไก่พื้นเมือง
คำสำคัญ: เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ ไก่ลูกผสมพื้นเมือง ประดู่หางดำ สารเสริมในอาหารสัตว์

Abstract

Coffee processing results in a large number of by-products. The coffee silver skin (CSS) accumulates in large amounts as a by-product of the roasting process. It has higher nutritional and functional properties. The objective of this study was to investigate the efficacy of CSS supplementation in crossbred Thai indigenous chicken (Pradu-Hang dam) diet on growth performance, antioxidant status in breast meat, microbial population in the cecum, intestinal morphology, and gene expression. Six hundred 1 week-old male broilers were randomly allocated to 6 experimental groups with 10 replicates (10 chick/rep.): control, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 CSS g/kg feed and antibiotic growth promoters (AGPs) group, respectively. The broilers in each group were fed a diet for 12 weeks. The result showed that the supplementation of CSS at 2.0 g/kg significantly increased growth performance, the content of antioxidants in breast meat and improved intestinal morphology, when compared to the control group (P<0.05). Moreover, the cost of feed was significantly reduced (P<0.01) to 4.09 Baht/body weight gain. In addition, decrease in *Salmonella* sp. and *E. coli* populations in the cecum of Thai native chicken, when compared to the control group (P<0.05). Furthermore, the inclusion of CSS increased the antioxidant genes and growth promoter gene in the liver compared to the AGPs group (P<0.05). In conclusion, the results indicated that the CSS supplementation had a beneficial effect on the productivity performance of Thai native chickens and can be used as a substitute for AGPs in Thai native chicken diets.
Keywords: coffee silverskin, native crossbred chicken, Pradu-Hangdum, feed additive

คำนำ

ความต้านทานโรค การปรับตัวต่อสภาพภูมิอากาศ รวมถึงคุณภาพซากและคุณภาพเนื้อ ถือเป็นลักษณะเด่นของไก่พื้นเมือง (Thai native chicken) ซึ่งจุดเด่นของเนื้อไก่พื้นเมือง คือ เนื้อมีความแน่นและมีระดับโปรตีนสูง อีกทั้งมีระดับไขมัน คอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ และกรดไขมันชนิดอิ่มตัวต่ำ (Jaturasitha, Srikanchai, Kreuzer, & Wicke, 2008) การเลี้ยงไก่พื้นเมือง ถือเป็นอาชีพทางเลือกหนึ่งในชุมชนเกษตรกรรม แต่สิ่งที่เป็นปัญหา คือ ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตที่ต่ำกว่าไก่สายพันธุ์การค้า จึงจำเป็นต้องใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงนานกว่า ส่งผลให้จำนวนไก่พื้นเมืองในปัจจุบัน ไม่เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค และมีราคาสูงกว่าไก่สายพันธุ์การค้า 2 ถึง 3 เท่า (Laopaiboon et al., 2010) นอกจากสายพันธุ์ที่เป็นปัจจัยสำคัญ การจัดการด้านอาหารก็ถือเป็นส่วนหนึ่ง ที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต หากมีการปรับปรุงให้ดีขึ้นพร้อมกับจำนวนการผลิตที่เพิ่มขึ้น ผลที่ตามมาคือ การเพิ่มขึ้นของรายได้ของเกษตรกร โอกาส และอาชีพทางเลือกสำหรับชุมชนที่ต้องการพึ่งพาตนเอง อีกทั้งยังสร้างความมั่นคงด้านอาหารสำหรับประเทศไทยและเสริมสร้างความเข้มแข็งให้กับชุมชนในอนาคต

ปี พ.ศ. 2558 – 2564 ประเทศไทยมีความต้องการใช้เมล็ดกาแฟในประเทศเฉลี่ย 81,417 ตันต่อปี โดยเฉพาะในปี พ.ศ. 2564 ไทยส่งออกกาแฟ 24,572 ตัน คิดเป็นมูลค่า 3,419 ล้านบาท โดยตลาดส่งออกหลัก ได้แก่ สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว เมียนมา กัมพูชา ฟิลิปปินส์ และจีน (กรมเจรจาการค้าระหว่างประเทศ กระทรวงพาณิชย์, 2564) ในภาคเหนือของประเทศไทย ถือเป็นแหล่งปลูกและแปรรูปกาแฟที่มากที่สุดในประเทศ โดยเฉพาะในจังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ และน่าน โดยในปี พ.ศ. 2564 จังหวัดเชียงรายเพียงจังหวัดเดียวสามารถผลิตกาแฟได้สูงถึง 1,907 ตัน (กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2564) ในกระบวนการคั่วเมล็ดกาแฟ เกิดผลพลอยได้ที่น่าสนใจ คือ “เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ (coffee silverskin)” ซึ่งถือเป็นเศษเหลือจากอุตสาหกรรมกาแฟ ที่รอการส่งเสริมและพัฒนาทางด้านชีวมวลในอนาคต (Narita & Inouye, 2014) โดยเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟเต็มไปด้วยเยื่อใย โปรตีน และเถ้า อีกทั้งมีปริมาณไขมันต่ำ (Pourfarzad et al., 2013) นักวิทยาศาสตร์จึงพยายามศึกษาถึงคุณลักษณะการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) และพรีไบโอติก (prebiotic) (Borrelli et al., 2004) เนื่องจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟมีองค์ประกอบโพลีฟีนอล (polyphenolic composition) ที่มีฤทธิ์เป็นสารต้านการเกิดออกซิเดชัน (antioxidation) และการกลายพันธุ์ (antimutant) ซึ่งอาจนำไปสู่การค้นพบนวัตกรรมวัตถุดิบอาหารที่ให้ประโยชน์เชิงหน้าที่ (innovative functional food ingredient) ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงได้ทำการศึกษาการเสริมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต ลักษณะซาก คุณภาพเนื้อ ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในเนื้ออก ปริมาณเชื้อจุลชีพในไส้ตัน สัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก และการแสดงออกของยีนในไก่ลูกผสมพื้นเมือง โดยพิจารณาปัจจัยอาหารวัตถุดิบท้องถิ่นเป็นสำคัญ เพื่อเพิ่มความสามารถในการพัฒนาสายพันธุ์ส่งผลต่อความต้องการของตลาดอย่างยั่งยืน

วิธีการศึกษา

สัตว์ทดลองและแผนการทดลอง

ไก่ลูกผสมพื้นเมืองประดู่หางดำ เพศผู้ จากภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 600 ตัว อายุ 1 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) โดยสุ่มให้ไก่ได้รับอาหารทดลอง 6 กลุ่ม กลุ่มละ 10 คอก คอกละ 10 ตัว ซึ่งอาหารสัตว์ทดลองกำหนดให้มีคุณค่าทางโภชนะตามความต้องการของไก่เนื้อ (NRC, 1994) โดยแบ่งกลุ่มการทดลองดังนี้

กลุ่มทดลองที่ 1 กลุ่มอาหารพื้นฐาน (CON)

กลุ่มทดลองที่ 2 กลุ่มอาหารพื้นฐานเสริมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟที่ระดับ 0.5 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (CSS0.5)

กลุ่มทดลองที่ 3 กลุ่มอาหารพื้นฐานเสริมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟที่ระดับ 1.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (CSS1.0)

กลุ่มทดลองที่ 4 กลุ่มอาหารพื้นฐานเสริมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟที่ระดับ 2.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (CSS2.0)

กลุ่มทดลองที่ 5 กลุ่มอาหารพื้นฐานเสริมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟที่ระดับ 4.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (CSS4.0)

กลุ่มทดลองที่ 6 กลุ่มอาหารพื้นฐานเสริมยาปฏิชีวนะในระดับเร่งการเจริญเติบโต (AGPs)

ไก่ทดลองได้รับน้ำและอาหารแบบเต็มที่ (*ad libitum*) ตลอดการทดลอง เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ ดำเนินการบันทึกข้อมูลปริมาณอาหารที่กินทุกวัน (Average Daily Feed Intake, ADFI) และบันทึกน้ำหนักทุกสัปดาห์ เพื่อประเมินสมรรถภาพการเจริญเติบโต จากการคำนวณอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (Average Daily Gain, ADG) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก (Feed Convention Ratio, FCR) และต้นทุนค่าอาหาร (Feed Cost per Gain, FCG) รวมทั้งบันทึกสุขภาพโดยรวมและอัตราการตายของไก่ในช่วงทดลอง โดยการทดลองนี้ทำการทดลองเลี้ยงสัตว์ภายใต้มาตรฐานการเลี้ยงสัตว์ทดลองและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ (MACUC008A/2564)

การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ลักษณะซากและคุณภาพเนื้อ (Carcass characteristics and meat quality)

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทำการอดอาหารไก่ 12 ชั่วโมง จากนั้นสุ่มไก่จำนวนคอกละ 1 ตัว หรือ 10 ตัวต่อกลุ่มการทดลอง เพื่อดำเนินการการุณยฆาต และชำแหละซาก ตามวิธี Jaturasitha et al. (2008) เพื่อชั่งน้ำหนัก และคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ซาก (Dressing percentage) และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักของอวัยวะภายใน (Internal organ percentage)

$$\text{เปอร์เซ็นต์ซาก (Dressing percentage)} = \frac{\text{น้ำหนักซาก} \times 100}{\text{น้ำหนักมีชีวิต}}$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์น้ำหนักของอวัยวะภายใน (Internal organ percentage)} = \frac{\text{น้ำหนักของอวัยวะใน} \times 100}{\text{น้ำหนักมีชีวิต}}$$

จากนั้นเก็บตัวอย่างเนื้อหน้าอกของไก่ เพื่อวิเคราะห์คุณภาพเนื้อทางห้องปฏิบัติการ โดยวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ของกล้ามเนื้อหน้าอก ด้วย pH meter และวัดค่าสีเนื้อไก่ได้แก่ ความสว่าง (lightness: L*) สีแดง (redness: a*) และสีเหลือง (yellowness: b*) รวมถึงค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity)

การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลชีพบางกลุ่มที่อาศัยอยู่ภายในไส้ตัน (Microbial counts in cecum)

ทำการเก็บตัวอย่างของเหลวในไส้ตัน เพื่อนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม Lactic acid bacteria (LAB) และเชื้อก่อโรค ได้แก่ เชื้อ *Salmonella* sp. และ *E. coli* โดยตัวอย่างของเหลวในไส้ตันจะถูกเจือจางใน 0.85% sterile saline จากนั้นทำการเพาะเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบจำเพาะ (selective agar media) ตามวิธีของ Giannenas et al. (2010)

การวิเคราะห์สัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก (Intestinal morphology)

ทำการเก็บตัวอย่างลำไส้เล็ก 3 ส่วน ได้แก่ เล็กส่วนต้น (duodenum) ส่วนกลาง (jejunum) และส่วนปลาย (ileum) ตามวิธีของ Srinual et al. (2020) นำตัวอย่างเข้าเครื่องเตรียมชิ้นเนื้ออัตโนมัติ (Automatic tissue processor) ทำการฝังเนื้อเยื่อด้วยเครื่องเตรียมบล็อกชิ้นเนื้อ (Tissue embedding)

และนำมาตัดด้วยเครื่องตัดชิ้นเนื้อ (Microtome) แล้วทำการย้อมด้วยสีฮีมาทอกซีลิน (Hematoxylin) และอีโอซิน (Eosin) จากนั้นบันทึกภาพสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงกำลังขยาย 10 เท่า ร่วมกับกล้องดิจิตอล ทำการวิเคราะห์ข้อมูลสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก ได้แก่ ความสูงของวิลไล (villus height, VH) ความกว้างของวิลไล (villus width, VW) ความลึกของเซลล์คริปท์ (crypt depth, CD) ความหนาของชั้นกล้ามเนื้อ (muscularis mucosae thickness) ด้วยโปรแกรม Motic Images Plus 2.0 (Motic China Group Co, Fujian, China)

โดยมีรายละเอียดการวิเคราะห์สัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก ดังนี้ การวัดความสูงของวิลไล โดยวัดจากปลายของวิลไลถึงฐานของวิลไล แต่ไม่รวมส่วนของเซลล์คริปท์ สำหรับความกว้างของวิลไล วัดจาก 1 ส่วนใน 3 ส่วน จำนวน 10 วิลไลต่อตัวอย่าง (1 ตัวอย่างเท่ากับ 1 ซ้ำต่อกลุ่มการทดลอง) ส่วนการวัดความลึกของเซลล์คริปวัดจากเยื่อรองรับฐาน (Basement membrane) ถึงส่วนปลายของเซลล์คริปท์ (Crypt mouth) จากนั้นคำนวณอัตราส่วนระหว่างความสูงของวิลไลต่อความลึกของเซลล์คริปท์ (villus height per crypt depth ratio, VH:CD) สำหรับชั้นกล้ามเนื้อ muscularis mucosae มีลักษณะบาง ๆ อยู่ถัดจากชั้น lamina propria เป็นกล้ามเนื้อเรียบที่เห็นได้ชัดเจน วัดจากส่วนบนฐานเซลล์คริปท์ถึงส่วนล่างของกล้ามเนื้อ ดังแสดงใน Figure 1

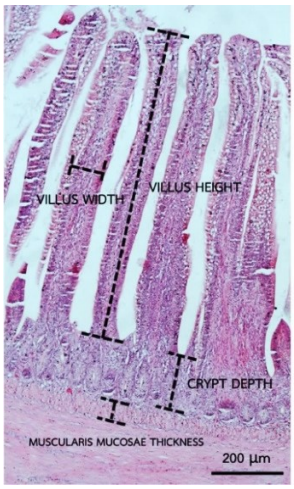

Figure 1 Histological examination of small intestinal section. Magnification was 10 × objective lens. Scale bars represent 200 µm.

การศึกษาการแสดงออกของยีนทั้งหมดในตับ (Gene expression)

สกัด total RNA จากตับด้วยชุดสกัด PureLink™ RNA Mini Kit (Invitrogen) ตามวิธีการของผู้ผลิต จากนั้นละลายตะกอน RNA ด้วย RNase-free water นำไปตรวจสอบปริมาณและคุณภาพ RNA แล้วนำ RNA ที่มีค่าของปริมาณและคุณภาพที่ยอมรับได้ (อัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงที่ 260 นาโนเมตรต่อค่าการดูดกลืนแสง 280 นาโนเมตร จะต้องมีค่าอยู่ในช่วง 1.8-2.0) มาสังเคราะห์ cDNA ด้วยเทคนิค Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) โดยควบคุมสภาวะของปฏิกิริยาตามวิธีการ PCR โดยชุดสังเคราะห์ iScriptTM cDNA Synthesis Kit (BIO-RAD, USA)

นำลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนเป้าหมาย จากกลไกที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันและการต้านอนุมูลอิสระ มาศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค real-time PCR และใช้ยีนที่มีการแสดงออกอย่างสม่ำเสมอในทุกเซลล์ (housekeeping gene) Beta-actin (ß-actin) เป็นยีนอ้างอิง โดยใช้ปฏิกิริยา PCR ตามชุดวิธีการ SensiFAST™ SYBR® No-ROX (Bioline, London, UK) วิเคราะห์ผลการแสดงออกของยีนด้วยวิธี $2^{-\Delta\Delta CT}$ (Livak & Schmittgen, 2001) โดยคำนวณสัดส่วนระดับการแสดงออกของยีนจากสมการ ดังนี้

$^{\Delta\Delta}$CT = (CT, target – CT, control) time X – (CT, target – CT, control) time 0

สัดส่วนการแสดงออกของยีน = $2^{-\Delta\Delta CT}$

เมื่อ CT, target = ค่า CT ของยีนเป้าหมาย; CT, control = ค่า CT ของยีนอ้างอิง

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการศึกษาและวิจารณ์

สมรรถภาพการเจริญเติบโตของไก่ลูกผสมพื้นเมือง

จากการศึกษาสมรรถภาพการเจริญเติบโตของไก่ลูกผสมพื้นเมือง เมื่ออายุ 12 สัปดาห์ (Table 1) พบว่า ไก่ทดลองกลุ่ม CSS2.0 มีน้ำหนักตัวสุดท้าย (final weight) และน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (weight gain) สูงที่สุด และมีอัตราการเจริญเติบโตและอัตราเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) และเมื่อศึกษาต้นทุนค่าอาหารต่อการผลิตเนื้อ พบว่า กลุ่มที่เสริม CSS ในสูตรอาหารมีต้นทุนค่าอาหารต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยสามารถลดต้นทุนได้สูงที่สุดถึงประมาณ 10 บาทต่อกิโลกรัมกิโลกรัมน้ำหนักตัวเพิ่ม ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Srijan et al. (2014) พบว่าการเสริมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟในอาหารไก่เนื้อ ส่งผลทำให้ไก่เนื้อมีประสิทธิภาพการผลิตดีขึ้น และสามารถลดต้นทุนค่าอาหารลงได้ 4.09 บาท เมื่อเปรียบเทียบกับไก่เนื้อกลุ่มที่ได้รับอาหารพื้นฐาน และจากหลากหลายการศึกษาพบว่า ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของไก่ที่เพิ่มขึ้น เป็นผลมาจากสารประกอบฟีนอลิกที่เป็นองค์ประกอบหลักใน CSS ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Jang et al., 2004; Lee et al., 2003; Starčević et al., 2015; Windisch et al., 2008) สอดคล้องกับการเสริมสารสกัดสารประกอบฟีนอลิกในรูปแบบอื่นในอาหารไก่เนื้อ เช่น การเสริมน้ำมันกานพลู (Clove essential oil) ส่งผลให้การเจริญเติบโตของไก่เนื้อให้ดีขึ้น (Valenzuela-Grijalva et al., 2017) และการเสริมน้ำมันลาเวนเดอร์ (Lavender essential oil) พบว่าสามารถเพิ่มน้ำหนักสุดท้ายและลดอัตราการตายของไก่ได้ (Pashtetsky et al., 2019) นอกจากสารประกอบฟีนอลิก CSS เป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายว่าเป็นแหล่งเยื่อใยชนิดไม่ละลายน้ำ (Insoluble dietary fibers) และละลายน้ำ (Soluble dietary fibers) อีกทั้งมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก(Prebiotic) (Van Doan et al., 2021) โดยทั้งนี้จากการศึกษาก่อนหน้านี้ รายงานว่าแหล่งพลังงานที่ไม่ใช่โปรตีน เช่น คาร์โบไฮเดรต และไขมัน ทำหน้าที่เป็นแหล่งพลังงานสำรองโปรตีนลดกระบวนการสลายโปรตีน (Protein catabolism) หรือการ ไฮโดรไลสิส โปรตีน ไปเป็นกรดอะมิโน เพื่อสร้างพลังงาน ซึ่งสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของสัตว์ได้ (Van Doan et al., 2021) แต่ทั้งนี้เป็นที่น่าสนใจคือการเสริม CSS ที่ระดับ 4.0 กรัม

ต่อกิโลกรัมอาหาร ไก่มีประสิทธิภาพการเจริญเติบโตที่ต่ำกว่า 2.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ซึ่งอาจเป็นผลมาจากผลกระทบเชิงลบของการเสริม CSS ที่ระดับสูง โดยจากการศึกษาก่อนหน้านี้รายงานว่าการเสริมพรีไบโอติกที่ระดับสูงอาจส่งผลเสียต่อระบบทางเดินอาหารของสัตว์ได้โดยเฉพาะอย่างยิ่งลำไส้ (Olsen et al., 2001) โดยการเสริมที่ระดับสูงอาจทำลายเนื้อเยื่อบริเวณลำไส้ได้ ส่งผลทำให้สุขภาพและการเจริญเติบโตของไก่ลดลงได้ โดยสามารถยืนยันได้จากผลการศึกษาสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก

Table 1 Effect of coffee silver skin supplement on growth performance of Thai native crossbred chicken.

Parameter	Treatment[1]						SEM	*P*-value
	CON	CSS0.5	CSS1.0	CSS2.0	CSS4.0	AGP		
Initial weight (g)	51.74	51.24	52.35	52.49	52.78	51.65	0.19	0.177
Final weight (g)	1147.62^{c}	1188.71^{bc}	1234.35^{ab}	1282.63^{a}	1260.16^{ab}	1188.76^{bc}	12.26	0.009
Weight gain (g)	1095.88^{bc}	1137.48^{bc}	1181.99^{ab}	1230.14^{a}	1207.38^{ab}	1137.12^{c}	12.25	0.010
ADG (g/d)	14.23^{c}	14.77^{bc}	15.35^{ab}	15.97^{a}	15.68^{ab}	14.76^{bc}	0.16	0.010
ADFI (g/d)	65.73	64.11	61.99	62.58	64.31	64.42	0.45	0.167
FCR	4.65^{c}	4.39^{bc}	4.05^{ab}	3.92^{a}	4.13^{ab}	4.37^{bc}	0.06	0.004
FCG (Baht/kg)	62.80^{a}	59.28^{ab}	54.63^{b}	52.94^{b}	55.76^{ab}	59.12^{ab}	0.83	0.004

[1] CON= basal diet group, CSS0.5 = basal diet with coffee silver skin 0.5 g/kg, CSS1.0 = basal diet with coffee silver skin 1.0 g/kg, CSS2.0 = basal diet with coffee silver skin 2.0 g/kg, CSS4.0 = basal diet with coffee silver skin 4.0 g/kg, and AGP = basal diet with antibiotic as growth promoter.

[a-d] Different superscript letters within each row are significantly different (*P*<0.05). SEM; standard error of mean, ADG; Average daily body weight gain, ADFI; Average daily feed intake, FCR; Feed conversion ratio, FCG; Feed cost per gain.

ลักษณะซากและคุณภาพเนื้อของไก่ลูกผสมพื้นเมือง

ไก่ทดลองกลุ่ม CSS2.0 มีเปอร์เซ็นต์ซากสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (*P*<0.05) แต่ทั้งนี้ไม่พบความแตกต่างทางสถิติต่อน้ำหนักซาก และค่าเปอร์เซ็นต์อวัยวะภายใน ได้แก่ ตับ ม้าม หัวใจ กระเพาะพัก กระเพาะแท้ ลำไส้เล็ก และไต ดัง Table 2

สำหรับการศึกษาคุณภาพเนื้อ (Table 3) พบว่า ไก่ทดลองกลุ่ม CSS1.0 มีค่าสีแดงในเนื้อสูงที่สุด แตกต่างจากกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับการเสริม AGP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P*<0.05) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Martuscelli, et al. (2021) พบว่าการเสริม CSS ที่ระดับ 1.5% และ 3% สามารถเพิ่มค่าสีแดงและสีเหลืองในเนื้ออกไก่หลังการนำมาประกอบอาหาร ในหลากหลายการศึกษาพบว่า การเสริมสารประกอบฟีนอลิกในอาหารไก่ ส่งผลต่อค่าสีของเนื้อไก่ โดย Pashtetsky et al. (2019) รายงานผลของเสริมสารสกัดกรดคลอโรจินิก (Chlorogenic acids) จากใบโต๋วต่ง (*Eucommia ulmoides*) ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกชนิดเดียวกับเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ พบว่า สามารถช่วยเพิ่มสีแดงของเนื้ออกไก่และลดความสว่างลง อีกทั้งช่วยลดการสูญเสียน้ำหนักจากการแช่เย็นและการต้มสุก และการศึกษาของ Young & Choi (2003) เสริมสารสกัดจากออริกาโน (Oregano) มีสารประกอบฟีนอลิกอยู่ในรูปของคาร์วาครอล (Carvacrol)

และไธมอล (Thymol) ในอาหารไก่เนื้อ พบว่าในเนื้อไก่ มีระดับสีแดงและสีเหลืองสูงขึ้น เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

เมื่อวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในเนื้ออกไก่ พบว่าการเสริม CSS ส่งผลต่อการสะสมสารต้านอนุมูลอิสระในเนื้ออกไก่ลูกผสมพื้นเมือง ดังแสดงใน Figure 2 โดยพบว่าไก่ทดลองกลุ่ม CSS2.0 มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในเนื้อสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P<0.05$) ผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ หากเกิดการออกซิเดชั่นของไขมัน (lipid oxidation) จะส่งผลให้ผลิตภัณฑ์เหม็นหืน (rancidity) เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งรสชาติ กลิ่น รสสัมผัส และสี เกิดความเสียหายต่อโครงสร้างของโปรตีน ไปจนถึงการสูญเสียความสดและระยะเวลาการเก็บรักษา (Yang et al., 2016) ปัจจุบันฟาร์มสัตว์ปีก นิยมเสริมสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (synthetic antioxidants) ลงในอาหารเพื่อแก้ไขปัญหา แต่มีความกังวลด้านความปลอดภัยที่เกี่ยวข้องกับการก่อให้เกิดโรคเรื้อรังได้ สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (natural antioxidants) ที่ปลอดภัย ประหยัด สามารถป้องกันการเสื่อมสภาพของผลิตภัณฑ์ และการบรรเทาโรคในเวลาเดียวกัน จึงเป็นทางเลือกที่ดีกว่า สอดคล้องกับความคิดเห็นของ Candan & Bağdatlı (2017) และ Pashtetsky et al. (2019) ที่กล่าวถึงการเสริมสารต้านอนุมูลอิสระในรูปแบบธรรมชาติ ไม่เพียงแต่มีผลต่อร่างกายของสัตว์ปีกในระยะเจริญเติบโตเท่านั้น แต่ส่งผลถึงการออกซิเดชั่นของไขมันในเนื้อหลังจากชำแหละจนถึงการเก็บรักษาด้วย จากการศึกษาการเสริมสารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติในอาหารไก่ Jang et al. (2004) รายงานผลการเสริมสารสกัดจากสมุนไพร ที่ประกอบด้วยใบหม่อน (mulberry leaf) สายน้ำผึ้ง (Japanese honeysuckle) และพืชสมุนไพรจีน goldthread ในอัตราส่วน 48.5:48.5:3.0 ตามลำดับ พบว่าเสริมที่ระดับ 1% ในอาหารไก่เนื้อส่งผลให้เนื้ออกไก่มีสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมและกลุ่มที่เสริมเพียง 0.3% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับการศึกษาของ Zhao et al. (2019) ที่เสริมสารสกัดกรดคลอโรจีนิค พบว่า ช่วยเพิ่มสมรรถภาพการเจริญเติบโตและปรับปรุงความเสถียรในการออกซิเดชั่นของเนื้ออกไก่

Table 2 Effect of coffee silver skin supplement on carcass quality of Thai native crossbred chicken.

Parameter	Treatment[1]						SEM	*P*-value
	CON	CSS0.5	CSS1.0	CSS2.0	CSS4.0	AGP		
Live weight (g)	1,290.0	1,394.0	1,287.00	1,262.00	1,363.00	1,374.00	17.32	0.128
Defeather weight (g)	1,170.0	1,258.0	1,173.00	1,195.00	1,251.00	1,293.20	17.00	0.182
Carcass weight (g)	1,134.9	1,220.2	1,137.81	1,159.15	1,213.47	1,254.40	16.49	0.183
Dressing percentage (%)	87.85^{c}	87.65^{c}	88.42^{bc}	91.77^{a}	89.09^{bc}	91.33^{ab}	0.46	0.023
Internal organ (%)	13.01	12.86	11.92	13.02	13.36	12.23	0.24	0.536
Liver	2.42	2.23	2.15	2.09	2.22	1.99	0.04	0.098
Spleen	0.21	0.16	0.18	0.17	0.22	0.18	0.01	0.600
Heart	0.52	0.51	0.51	0.47	0.49	0.52	0.01	0.856
Gizzard	3.23	3.14	2.93	3.46	3.30	3.10	0.08	0.470
Proventriculus	0.45	0.41	0.37	0.41	0.46	0.41	0.01	0.336
Small intestine	5.25	5.38	4.69	5.57	5.83	4.98	0.13	0.130
Kidney	0.63	0.63	0.63	0.71	0.70	0.65	0.02	0.551

[1] CON= basal diet group, CSS0.5 = basal diet with coffee silver skin 0.5 g/kg, CSS1.0 = basal diet with coffee silver skin 1.0 g/kg, CSS2.0 = basal diet with coffee silver skin 2.0 g/kg, CSS4.0 = basal diet with coffee silver skin 4.0 g/kg, and AGP = basal diet with antibiotic as growth promoter.

[a-d] Different superscript letters within each row are significantly different (P<0.05).

Table 3 Effect of coffee silver skin supplement on meat quality of Thai native crossbred chicken.

Parameter	Treatment[1]						SEM	*P*-value
	CON	CSS0.5	CSS1.0	CSS2.0	CSS4.0	AGP		
Breast meat $pH_{24\,h}$	5.91	5.80	5.90	5.96	5.92	5.99	0.03	0.505
Meat color								
L* (lightness)	42.49	41.08	40.94	38.28	42.96	45.69	0.87	0.247
a* (redness)	2.61^{bc}	3.18^{ab}	3.31^{a}	1.97^{bc}	1.58^{c}	2.36^{bc}	0.19	0.042
b* (yellowness)	3.37^{b}	3.81^{b}	3.07^{b}	3.82^{b}	7.01^{a}	6.26^{a}	0.38	0.002
Water-holding capacity (loss, % of total)								
Thawing loss	4.05^{b}	3.71^{b}	3.41^{b}	3.13^{b}	4.70^{ab}	6.35^{a}	0.29	0.012
Drip loss	0.76	1.09	0.67	0.62	0.50	0.58	0.06	0.151
Cooking loss	15.38^{d}	15.40^{d}	15.64^{c}	15.70^{c}	15.89^{ab}	15.94^{a}	0.34	<0.001
Shear force (N)	2.07^{c}	2.08^{c}	2.11^{b}	2.11^{b}	2.15^{a}	2.14^{a}	0.05	<0.001

[1] CON= basal diet group, CSS0.5 = basal diet with coffee silver skin 0.5 g/kg, CSS1.0 = basal diet with coffee silver skin 1.0 g/kg, CSS2.0 = basal diet with coffee silver skin 2.0 g/kg, CSS4.0 = basal diet with coffee silver skin 4.0 g/kg, and AGP = basal diet with antibiotic as growth promoter.

[a-d] Different superscript letters within each row are significantly different (P<0.05).

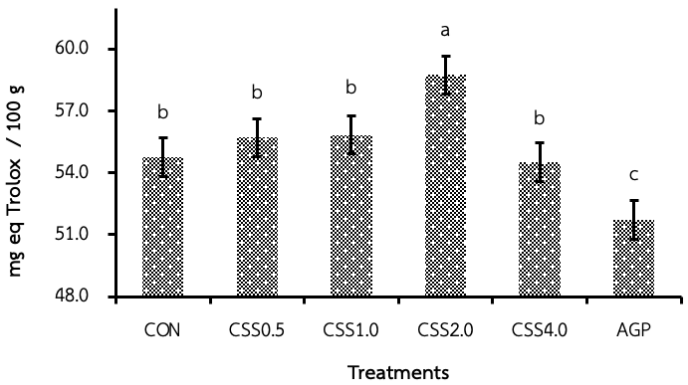

Figure 2 Effect of coffee silver skin supplement on total antioxidant in meat of Thai native crossbred chicken.

[1] CON = basal diet group, CSS0.5 = basal diet with coffee silver skin 0.5 g/kg, CSS1.0 = basal diet with coffee silver skin 1.0 g/kg, CSS2.0 = basal diet with coffee silver skin 2.0 g/kg, CSS4.0 = basal diet with coffee silver skin 4.0 g/kg, and AGP = basal diet with antibiotic as growth promoter. [a-d] Different superscript letters within each row are significantly different (P<0.05).

ปริมาณเชื้อจุลชีพบางกลุ่มที่อาศัยอยู่ภายในไส้ตันของไก่ลูกผสมพื้นเมือง

ผลการศึกษาการเสริม CSS ในอาหารไก่ลูกผสมพื้นเมืองต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในไส้ตัน พบว่า ปริมาณเชื้อ LAB ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ในกลุ่มอาหารพื้นฐานเสริม CSS2.0 และ CSS4.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีปริมาณเทียบเท่ากับกลุ่มที่เสริมยาปฏิชีวนะในระดับเร่งการเจริญเติบโต (AGP) และมีปริมาณต่ำกว่ากลุ่มควบคุม สำหรับปริมาณ *Salmonella* sp. และ *E. coli* พบว่ากลุ่มที่เสริม CSS2.0 มีปริมาณเชื้อต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (Table 4) เป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่า CSS มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการเพิ่มเชื้อจุลินทรีที่มีประโยชน์ในระบบทางเดินอาหาร โดยเพิ่มประสิทธิภาพการยึดเกาะของเชื้อจุลินทรีย์ (Bessada, C. Alves, et al., 2018; Borrelli et al., 2004) แต่ทั้งนี้การเสริมสารในกลุ่มพรีไบโอติกในปริมาณสูงอาจส่งผลกระทบต่อเยื่อบุบริเวณลำไส้ ซึ่งส่งผลทำให้ลดประสิทธิภาพการยึดเกาะของเชื้อจุลินทรีในระบบทางเดินอาหาร ไม่ว่าจะเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ หรือเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (Olsen et al. (2001) แต่ทั้งนี้เพียงแค่ปริมาณเชื้อ *Salmonella* sp. และ *E. coli* ลดลง จากการเสริม CSS ในอาหารไก่ เพียงเท่านี้ก็แสดงถึงการลดอัตราการป่วยและการตายลงได้ สอดคล้องกับการศึกษาของ Srijan et al. (2016) ที่ศึกษาการเสริมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟเพื่อทดแทนสารเร่งการเจริญเติบโตที่เป็นยาปฏิชีวนะต่อเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ของไก่เนื้อ พบว่า ไก่เนื้อกลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟและยาปฏิชีวนะมีปริมาณของเชื้อ *Clostridium* spp., *E. coli* และ *Salmonella* spp. ในลำไส้ต่ำกว่าไก่ที่ได้รับอาหารพื้นฐาน ประกอบกับ Xia et al. (2011) รายงานถึงการทดสอบปริมาณความเข้มข้นที่น้อยที่สุด (minimum inhibitory concentration, MIC) ของกรดคลอโรจินิก พบว่า ความเข้มข้นเพียง 0.1-0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ก็สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella enterica* ได้สูงมาก และการศึกษาเสริมสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติชนิดอื่น เช่น การศึกษาการเสริมมะยมฝรั่ง (*Eugenia uniflora*) ที่มีสารประกอบฟีนอลิกที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในรูปของยูจีนอล (Eugenol) พบว่า สามารถลดปริมาณ *E. Coli* ในไส้ตันของไก่เนื้อลงได้ (Pashtetsky et al., 2019)

Table 4 Effect of coffee silverskin supplement on caecum microbiota of Thai native crossbred chicken.

Parameter	Treatment[1]						SEM	*P*-value
	CON	CSS0.5	CSS1.0	CSS2.0	CSS4.0	AGP		
LAB	7.71^{a}	7.71^{a}	6.94^{c}	7.33^{b}	7.31^{b}	7.35^{b}	0.083	<0.001
E. coli	7.36^{a}	7.09^{b}	6.73^{c}	6.48^{d}	7.34^{a}	6.68^{c}	0.069	<0.001
Salmonella sp.	7.10^{a}	6.89^{b}	6.65^{c}	6.52^{cd}	6.67^{c}	6.44^{d}	0.041	<0.001

[1] CON= basal diet group, CSS0.5 = basal diet with coffee silver skin 0.5 g/kg, CSS1.0 = basal diet with coffee silver skin 1.0 g/kg, CSS2.0 = basal diet with coffee silver skin 2.0 g/kg, CSS4.0 = basal diet with coffee silver skin 4.0 g/kg, and AGP = basal diet with antibiotic as growth promoter.

[2] LAB: Lactic acid bacteria.

[a-d] Different superscript letters within each row are significantly different ($P<0.05$).

สัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กของไก่ลูกผสมพื้นเมือง

จากการศึกษาผลการเสริม CSS ในอาหารไก่พื้นเมืองลูกผสมต่อลักษณะการเปลี่ยนแปลงของสัณฐานวิทยาลำไส้เล็ก (Table 5) พบการเปลี่ยนแปลงในลำไส้ทั้ง 3 ส่วน โดยในลำไส้เล็กส่วนต้นพบว่า ในไก่ทดลองกลุ่ม CSS4.0 มี VH และ VH:CD สูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) เช่นเดียวกับลักษณะการเปลี่ยนแปลงของลำไส้เล็กส่วนกลางที่พบว่า ในไก่ทดลองกลุ่ม CSS4.0 มี VH, VW และ VH:CD สูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ส่วนลักษณะสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กส่วนปลายพบว่าไก่ทดลองกลุ่ม CSS2.0 มี VH สูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ แต่สำหรับ VH:CD สูงที่สุดยังพบที่ไก่ทดลองกลุ่ม CSS4.0

การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาในลำไส้ อาจจะเป็นผลจากคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ ที่สามารถกระตุ้นประสิทธิภาพการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการดูดซึมของอาหาร (Sayrafi et al., 2011)โดยความยาวและความกว้างของวิลไลในลำไส้เล็ก เป็นตัวชี้วัดที่สำคัญอย่างยิ่งของการเปลี่ยนแปลงในสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กที่แสดงถึงการเพิ่มขึ้นของประสิทธิภาพการดูดซึม โดยมีงานวิจัยมากมายแสดงให้เห็นว่า การเสริมพรีไบโอติกในอาหารไก่สามารถช่วยปรับปรุงสัณฐานวิทยาลำไส้เล็กและปรับปรุงเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ภายในลำไส้ (Marković et al., 2009; Spring et al., 2000) ทั้งนี้ Sayrafi et al. (2011) ได้อธิบายการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เยื่อบุภายในลำไส้ ที่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างต่อเนื่องและเกิดการแบ่งตัวเพื่อชดเชยการสูญเสียของวิลไลภายในลำไส้ตลอดเวลา ผ่านการงอกของวิลไลและเจริญของเซลล์คริปท์ โดยความลึกของคริปท์มีความสัมพันธ์กับอัตราการหมุนเวียนของเซลล์ภายในลำไส้ (cells turnover rate) การเพิ่มอัตราส่วนความสูงของวิลไล และความลึกขอเซลล์คริปท์ บ่งชี้ถึงความจำเป็นในการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่ก่อตัวเป็นเยื่อบุลำไส้ (enterocyte) (Marković et al. 2009; Oliveira et al., 2008) ผลในการศึกษานี้พบความสูงของวิลไลเพิ่มขึ้นตามระดับการเสริมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ จึงสามารถสรุปได้ว่าสารเสริมดังกล่าวส่งผลต่อการหมุนเวียนของเซลล์เยื่อบุในลำไส้เล็ก

Table 5 Effect of coffee silverskin supplement on intestinal morphology of Thai native crossbred chicken.

Parameter	Treatment[1]						SEM	P-value
	CON	CSS0.5	CSS1.0	CSS2.0	CSS4.0	AGP		
Duodenum								
Villus height (μm)	903.36[d]	923.95[d]	1052.02[b]	1067.65[ab]	1097.01[a]	977.91[c]	5.940	0.001
Villus wide (μm)	115.35[c]	135.34[a]	125.20[b]	124.65[b]	128.52[b]	130.92[ab]	0.983	0.001
Crypt depth (μm)	213.37[a]	192.96[b]	192.92[b]	176.33[c]	165.74[c]	223.71[a]	2.147	0.001

MMT (µm)	19.43^{c}	20.38^{bc}	20.96^{b}	20.58^{bc}	20.88^{bc}	22.34^{a}	0.203	0.003
VH:CD	4.42^{d}	5.27^{c}	5.62^{c}	6.33^{b}	7.21^{a}	4.72^{d}	0.087	0.001
Jejunum								
Villus height (µm)	776.95^{c}	777.21^{c}	805.07^{c}	854.53^{b}	960.79^{a}	784.95^{c}	6.433	0.001
Villus wide (µm)	114.55^{ab}	110.98^{b}	114.55^{ab}	115.88^{ab}	118.59^{a}	105.02^{c}	0.841	0.001
Crypt depth (µm)	173.95^{ab}	175.26^{ab}	169.64^{ab}	165.06^{b}	151.26^{c}	182.74^{a}	1.855	0.001
MMT (µm)	27.92^{a}	27.72^{a}	24.66^{b}	23.21^{bc}	22.40^{c}	24.30^{bc}	0.284	0.001
VH:CD	4.61^{cd}	4.89^{cd}	5.08^{c}	5.63^{b}	6.62^{a}	4.52^{d}	0.076	0.001
Ileum								
Villus height (µm)	538.73^{d}	634.95^{bc}	668.19^{ab}	695.65^{a}	650.07^{bc}	617.03^{c}	5.768	0.001
Villus wide (µm)	96.89^{a}	89.57^{b}	97.67^{a}	90.85^{b}	90.83^{b}	93.87^{ab}	0.623	0.001
Crypt depth (µm)	100.35^{b}	108.92^{a}	99.34^{b}	99.74^{b}	84.317^{c}	87.01^{c}	1.168	0.001
MMT (µm)	24.28^{d}	27.93^{ab}	26.25^{bc}	27.63^{ab}	25.88^{c}	28.01^{a}	0.240	0.001
VH:CD	5.95^{c}	6.29^{c}	7.29^{b}	7.26^{b}	8.08^{a}	7.48^{ab}	0.103	0.001

[1] CON= basal diet group, CSS0.5 = basal diet with coffee silver skin 0.5 g/kg, CSS1.0 = basal diet with coffee silver skin 1.0 g/kg, CSS2.0 = basal diet with coffee silver skin 2.0 g/kg, CSS4.0 = basal diet with coffee silver skin 4.0 g/kg, and AGP = basal diet with antibiotic as growth promoter.

[2] MMT = Muscularis mucosae thickness; VH:CD = Villus height per crypt depth ratio.

[a-d] Different superscript letters within each row are significantly different (P<0.05).

การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันและสารต้านอนุมูลอิสระในตับไก่ลูกผสมพื้นเมือง

จากการศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน สารต้านอนุมูลอิสระ และการเจริญเติบโตของไก่ลูกผสมพื้นเมืองที่ได้รับการเสริม CSS (Figure 3) พบว่าการเสริม CSS ส่งผลต่อการแสดงออกของยีน antioxidant enzyme ได้แก่ Superoxide dismutase (SOD), Catalase (CAT) และ Glutathione peroxidase (GPX) โดยไก่ทดลองกลุ่ม CSS1.0 พบการแสดงออกของยีน SOD และ CAT ในตับ มีการแสดงออกที่สูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ในด้านของระบบภูมิคุ้มกันของไก่ที่ได้รับการเสริม CSS ที่ระดับ 0.5 และ 1.0 กรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ส่งผลให้เกิดการกระตุ้นยีนต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory) interleukin 10 (IL10) ในตับเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงให้เห็นว่าการเสริม CSS ทำให้ไก่มีสุขภาพและการเจริญเติบโตดีขึ้น ผลลัพธ์เหล่านี้บ่งชี้ว่าเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟมีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Bessada et al. (2018) โดยสรุปไว้ว่า ในเยื่อหุ้มเมล็ด

กาแฟมีสารออกฤทธิ์ที่สำคัญในการต้านอนุมูลอิสระและต้านอักเสบของเซลล์ได้ ได้แก่ caffeoylquinic acids, feruloylquinic acids, p-coumaroylquinic acids และ melanoidins นอกจากนั้นการศึกษาครั้งนี้ยังพบว่าการแสดงออกของยีน Nuclear factor erythroid-2-related factor 2 (Nrf2) ลดลงในกลุ่มทดลอง CSS2.0 และ CSS4.0 ซึ่งเป็นยีนในกลุ่มต้านอนุมูลอิสระ โดย Nrf2 จะทำให้เกิดการสร้างโปรตีน Nrf2 ซึ่งทำหน้าที่เป็น Transcription factor โดยจะไปกระตุ้นการแสดงออกของยีน antioxidant enzyme (He et al., 2020) ซึ่งเป็นผลสอดคล้องกับการลดการแสดงออกของ SOD, CAT และ GPX เมื่อเสริม CSS ที่ระดับเพิ่มขึ้น ทั้งนี้การเพิ่มขึ้นของยีนต้านอนุมูลอิสระจะถูกกระตุ้นเพิ่มขึ้นในสภาวะที่มีระดับ ROS ในร่างกายสูง ซึ่ง ROS จะถูกกระตุ้นสูงเมื่อร่างกายได้สารอนุมูลอิสระ หรืออยู่ในภาวะเครียดออกซิเดชั่น (Bessada, C. Alves, et al., 2018; He et al., 2020) และด้วยคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของ CSS จึงมีประสิทธิภาพสูงในการลดระดับ ROS ในร่างกายของสัตว์ได้ (Bessada, C. Alves, et al., 2018; Castillo et al., 2016) และเมื่อศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของไก่ลูกผสมพื้นเมือง ได้แก่ Interferon gamma (IFNg) และ Insulin like growth factor 1 (IGF1) พบว่ากลุ่มที่ได้รับ CSS0.5 มีการแสดงออกของยีนชนิดนี้สูงที่สุด รองลงมาคือกลุ่มที่ได้รับการเสริม CSS1.0 และ CSS4.0 (P<0.05) โดย IFN จะจับกับ receptor แบบจำเพาะ จากนั้นเกิดการกระตุ้นโปรตีน เพื่อส่งสัญญาณเข้าไปนิวเคลียส Transcription factor จะเป็นตัวรับสัญญาณต่อโดยจับกับ DNA sequence ที่จำเพาะบน promotor ของเซลล์เจ้าบ้าน ทำให้เกิดการกระตุ้นการทำงานของยีนหลายตัวที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต (Alimohammadi-Saraei et al., 2019)

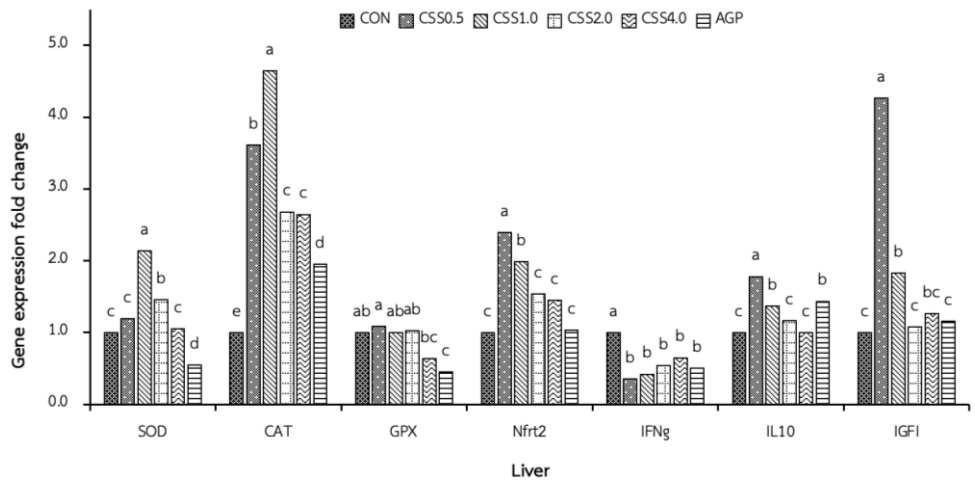

Figure 3 Effect of coffee silver skin supplement on the relative expression of SOD, CAT, GPX, NFrt2, IFNg, IL10 and IGFI in the liver of Thai native crossbred chicken.

[1] CON = basal diet group, CSS0.5 = basal diet with coffee silver skin 0.5 g/kg, CSS1.0 = basal diet with coffee silver skin 1.0 g/kg, CSS2.0 = basal diet with coffee silver skin 2.0 g/kg, CSS4.0 = basal diet with

coffee silver skin 4.0 g/kg, and AGP = basal diet with antibiotic as growth promoter. [a-d] Different superscript letters within each row are significantly different (P<0.05).

สรุปผลการศึกษา

การเสริมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ (CSS) ในอาหารไก่ลูกผสมพื้นเมือง ในระดับที่เหมาะสมที่สุด คือ 2.0 กรัม/กิโลกรัมอาหาร เนื่องจากสามารถช่วยเพิ่มสมรรถภาพการเจริญเติบโต เปอร์เซ็นต์ซาก ความสามารถในการอุ้มน้ำของผลิตภัณฑ์เนื้อไก่ การสะสมสารต้านอนุมูลอิสระในเนื้อ การพัฒนาสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก และการแสดงออกของยีนต้านการอักเสบ อีกทั้งสามารถลดจำนวนเชื้อ *E. coli* ในระบบทางเดินอาหาร ลดต้นทุนค่าอาหาร (10 บาทต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวเพิ่ม) และที่สำคัญมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับการใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อเร่งการเจริญเติบโต จึงถือเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่สำคัญในการเป็นสารเสริมในอาหารไก่พื้นเมือง เพื่อทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะได้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยและนวัตกรรมจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2564 ทั้งนี้ขอขอบคุณภาควิชาสัตวศาสตร์ และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สำหรับการเอื้อเฟื้อสถานที่ในการศึกษาและขอขอบคุณศูนย์ความเป็นเลิศศูนย์พัฒนากาแฟล้านนาไทย ภายใต้ศูนย์เทคโนโลยีเกษตรและนวัตกรรม AIC (Agritech and Innovation Center) คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สำหรับการสนับสนุนวัตถุดิบในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

Alimohammadi-Saraei, M., Chamani, M., Seidavi, A., Sadeghi, A. A., & Aminafshar, M. (2019). Effects of different levels of green tea and Resemary extracts on growth performance, carcass characteristics, liver enzymes, interleukin-6 and interferon-gamma genes expression in broiler chickens Ross 308. **Agricultural Biotechnology Journal**. 11(3), 83-112.

Bessada, S. M., Alves, R., & PP Oliveira, M. B. (2018). Coffee silverskin: A review on potential cosmetic applications. **Cosmetics**. 5(1), 5-15.

Borrelli, R. C., Esposito, F., Napolitano, A., Ritieni, A., & Fogliano, V. (2004). Characterization of a new potential functional ingredient: coffee silverskin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 52(5), 1338-1343.

Candan, T., & Bağdatlı, A. (2017). Use of natural antioxidants in poultry meat. **Celal Bayar University Journal of Science**. 13(2), 279-291.

Giannenas, I., Tontis, D., Tsalie, E., Chronis, E., Doukas, D., & Kyriazakis, I. (2010). Influence of dietary mushroom *Agaricus bisporus* on intestinal morphology and microflora composition in broiler chickens. **Research in Veterinary Science.** 89(1), 78-84.

He, F., Ru, X., & Wen, T. (2020). NRF2, a transcription factor for stress response and beyond. **International Journal of Molecular Sciences**. 21(13), 4777.

Jang, I., Ko, Y., Yang, H., Ha, J., Kim, J., Kim, J., Kang, S., Yoo, D., Nam, D., & Kim, D. (2004). Influence of essential oil components on growth performance and the functional activity of the pancreas and small intestine in broiler chickens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**. 17(3), 394-400.

Jaturasitha, S., Srikanchai, T., Kreuzer, M., & Wicke, M. (2008). Differences in carcass and meat characteristics between chicken indigenous to northern Thailand (Black-boned and Thai native) and imported extensive breeds (Bresse and Rhode Island Red). **Poultry Science**. 87(1), 160-169.

Laopaiboon, B., Duangjinda, M., Vongpralab, T., Sanchaisuriya, P., Nantachai, K., & Boonkum, W. (2010). Testing of growth performances and meat tenderness in crossbred chicken from Thai indigenous sire and commercial dam. **Kaen Kaset**. 38(4), 373-384.

Lee, K.-W., Everts, H., Kappert, H., Frehner, M., Losa, R., & Beynen, A. (2003). Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. **British Poultry Science**. 44(3), 450-457.

Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2− **ΔΔ**CT method. **Methods**. 25(4), 402-408.

Marković, R., Šefer, D., Krstić, M., & Petrujkić, B. (2009). Effect of different growth promoters on broiler performance and gut morphology. **Archivos de Medicina Veterinaria**. 41(2), 163-169.

Martuscelli, M., Esposito, L., & Mastrocola, D. (2021). The role of coffee silver skin against oxidative phenomena in newly formulated chicken meat burgers after cooking. **Food***s*. 10(8), 1833-1839.

Narita, Y., & Inouye, K. (2014). Review on utilization and composition of coffee silverskin. **Food Research International**. 61, 16-22.

Oliveira, M., Rodrigues, E., Marques, R., Gravena, R., Guandolini, G., & Moraes, V. (2008). Performance and morphology of intestinal mucosa of broilers fed mannan-oligosaccharides and enzymes**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 60(2), 442-448.

Olsen, R. E., Myklebust, R., Kryvi, H., Mayhew, T. M., & Ring, E., (2001). Damaging effect of dietary inulin on intestinal enterocytes in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). **Aquaculture Research**. 32, 931-934.

Pashtetsky, V., Ostapchuk, P., Il'yazov, R., Zubochenko, D., & Kuevda, T. (2019). Use of antioxidants in poultry farming. In **The IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. (pp. 1-9). Kurgan: Russian Federation.

Pourfarzad, A., Mahdavian-Mehr, H., & Sedaghat, N. (2013). Coffee silverskin as a source of dietary fiber in bread-making: Optimization of chemical treatment using response surface methodology. **LWT-Food Science and Technology**. 50(2), 599-606.

Sayrafi, R., Shahrooz, R., Soltanalinejad, F., & Rahimi, S. (2011). Histomorphometrical study of the prebiotic effects on intestine morphology and growth performance of broiler chickens. **Veterinary Research Forum**. 2(1), 45-51.

Spring, P., Wenk, C., Dawson, K., & Newman, K. (2000). The effects of dietary mannaoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of *salmonella*-challenged broiler chicks. **Poultry Science**. 79(2), 205-211.

Srijan, K., Tapingkae, W., & Yachai, M. (2014). Effects of dietary coffee silverskin supplementation on productive performance and immune response of broilers. **Thai Journal of Animal Science**. 1: 33-36 (in Thai).

Srijan, K., Tapingkae, W., & Yachai, M. (2016). Functional properties of coffee silverskin and its effect on cecal microbiota in broiler chicken. **Khon Kaen Agriculture Journal**. 44(2), 735-741 (in Thai).

Srinual, O., Punyatong, M., Moonmanee, T., Intawicha, P., Yachai, M., & Tapingkae, W. (2020). Replacement of fish meal with suckermouth armored catfish and its effect on performance and intestinal morphology of indigenous Thai chicken. **Journal of Animal & Plant Sciences**. 30(4), 803-810.

Starčević, K., Krstulović, L., Brozić, D., Maurić, M., Stojević, Z., Mikulec, Ž., Bajić, M., & Mašek, T. (2015). Production performance, meat composition and oxidative susceptibility in broiler chicken fed with different phenolic compounds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 95(6), 1172-1178.

Valenzuela-Grijalva, N. V., Pinelli-Saavedra, A., Muhlia-Almazan, A., Domínguez-Díaz, D., & González-Ríos, H. (2017). Dietary inclusion effects of phytochemicals as growth promoters in animal production. **Journal of Animal Science and Technology**. 59(1), 1-17.

Van Doan, H., Lumsangkul, C., Hoseinifar, S. H., Harikrishnan, R., Balasundaram, C., & Jaturasitha, S. (2021). Effects of coffee silverskin on growth performance, immune response, and disease resistance of Nile tilapia culture under biofloc system. **Aquaculture**. 543, 736995.

Windisch, W., Schedle, K., Plitzner, C., & Kroismayr, A. (2008). Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. **Journal of Animal Science**. 86(14), 140-148.

Xia, D., Wu, X., Shi, J., Yang, Q., & Zhang, Y. (2011). Phenolic compounds from the edible seeds extract of Chinese Mei (*Prunus mume* Sieb. et Zucc) and their antimicrobial activity. **LWT-Food Science and Technology**. 44(1), 347-349.

Young, H.-T., & Choi, H.-J. (2003). Studies on nutrient components between the Chungjung chicken meats. **The Korean Journal of Food and Nutrition**. 16(3), 187-191.

Zhao, J. S., Deng, W., & Liu, H. W. (2019). Effects of chlorogenic acid-enriched extract from *Eucommia ulmoides* leaf on performance, meat quality, oxidative stability, and fatty acid profile of meat in heat-stressed broilers. **Poultry science** 98(7), 3040-3049.

วันรับบทความ (Received date) : 23 มิ.ย. 65
วันแก้ไขบทความ (Revised date) : 16 ต.ค. 65
วันตอบรับบทความ (Accepted date) : 16 ธ.ค. 65