



วารสารแก่นเกษตร
THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj>



การประเมินศักยภาพของสารสกัดจากกากกาแฟเพื่อเป็นทางเลือกทดแทนยาปฏิชีวนะ กระตุ้นการเจริญเติบโตในไก่เนื้อ

Evaluation of the potential of spent coffee ground extracts as an alternative to antibiotic growth promoter in broiler chickens

ภัชชรี ศรีนวล¹, ชนิดาภา แก่นมณี^{1,2}, พิมพร คำทวิ¹, อรณี ศรีนวล^{1,3}, นเรศ ปินตาเลิศ⁴, มงคล ยะไชย⁵ และ วรณพร ทะพิงค์แก^{1,3*}

Phatchari Srinual¹, Chanidapha Kanmanee^{1,2}, Pimporn Khamtavee¹, Orranee Srinual^{1,3}, Nare Pintalerd⁴, Mongkol Yachai⁵ and Wanaporn Tapingkae^{1,3*}

¹ ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

¹ Department of Animal and Aquatic Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

² สำนักงานบริหารงานวิจัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

² Office of Research Administration, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

³ ศูนย์นวัตกรรมอาหารสัตว์เชิงหน้าที่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

³ Functional Feed Innovation Center (FuncFeed), Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

⁴ ศูนย์วิจัย บูรณาการ สาธิต และฝึกอบรมนวัตกรรมการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

⁴ Agricultural Innovation Research, Integration, Demonstration and Training Center, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

⁵ คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

⁵ Faculty of Animal Science and Technology, Maejo University, Chiang Mai 50290

บทคัดย่อ: สารสกัดจากกากกาแฟ (Spent coffee ground extracts; SCGE) อุดมไปด้วยกรดคลอโรจีนิก และเมลานินดินเหมาะสำหรับเสริมในอาหารสัตว์เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพการผลิต การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริม SCGE ในอาหารต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ค่าโลหิตวิทยา ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในไส้ตัน และสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กในไก่เนื้อ โดยทำการสุ่มลูกไก่เนื้อพันธุ์ Ross 308 อายุ 1 วัน จำนวน 500 ตัว แบ่งเป็น 5 กลุ่มอาหารทดลอง แต่ละกลุ่มมี 10 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ตัว ประกอบด้วย อาหารที่ไม่มียาปฏิชีวนะเป็นกลุ่มควบคุมเชิงลบ (Negative control; NC) อาหารพื้นฐานเสริมด้วยยาปฏิชีวนะกระตุ้นการเจริญเติบโตเป็นกลุ่มควบคุมเชิงบวก (Positive control; PC) และ อาหาร NC ที่เสริมด้วย SCGE ที่ระดับ 0.5, 1.0 และ 2.0 ก./กก. อาหาร ตามลำดับ ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่า กลุ่ม SCGE และ PC มีน้ำหนักตัวสุดท้ายและอัตราการเจริญเติบโต (Average Daily Gain; ADG) สูงกว่ากลุ่ม NC ($P < 0.05$) ทั้งนี้กลุ่ม SCGE ทุกกลุ่มมีประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (Feed Conversion Ratio; FCR) ดีกว่ากลุ่ม PC และ NC ($P < 0.05$) ปริมาณเชื้อ *Lactobacillus* spp. ในไส้ตันของกลุ่ม SCGE1.0 และ SCGE2.0 มากกว่า ($P < 0.05$) กลุ่ม PC โดยกลุ่ม NC และ SCGE0.5 มีค่าน้อยที่สุด ($P < 0.05$) กิจกรรมของเอนไซม์ Alanine aminotransferase (ALT) ของกลุ่ม SCGE0.5 SCGE1.0 และ SCGE2.0 มีค่าต่ำกว่ากลุ่ม NC ($P < 0.05$) ส่วนของ Aspartate transaminase (AST) ของ SCGE2.0 มีค่าน้อยที่สุด ($P < 0.05$) ค่าความสูงของวิลโลและความลึกของครีปท์ของลำไส้เล็กส่วนกลางของกลุ่ม SCGE มากกว่า กลุ่ม NC และ PC ดังนั้น การเสริม SCGE ที่ระดับ 2.0 ก./กก. ช่วยปรับปรุงน้ำหนักสุดท้าย ADG FCR และสมดุลของเชื้อในไส้ตันได้ จึงถือว่ามีศักยภาพในการใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะในอาหารไก่เนื้อได้

คำสำคัญ: สารสกัดจากกากกาแฟ; สารทดแทนยาปฏิชีวนะ; ไก่เนื้อ; สัณฐานวิทยาของลำไส้

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

Received: date; May 1, 2024 Revised: date; August 20, 2024

Accepted: date; August 21, 2024 Published: date;

ABSTRACT: Spent coffee ground extracts (SCGE) are a rich source of bioactive compounds, such as chlorogenic acid and melanoidins, and can be a suitable additive to improve animal production performance. The present experiment aimed to evaluate the efficacy of spent coffee ground extracts (SCGE) on growth performance, blood chemistry, gut microbiology, and intestinal morphology in broiler chickens. Five hundred one-day-old Ross 308 broiler chicks were randomly allocated into five dietary groups, each with 10 replicates of 10 birds. A basal diet without antibiotics served as the negative control (NC). The basal diet was supplemented with antibiotic growth promoters, which served as a positive control (PC). The NC diets were supplemented with SCGE at 0.5, 1.0, and 2.0 g/kg feed, respectively. The results indicated that SCGE and PC had a higher final weight and average daily gain (ADG) than NC ($P < 0.05$). All SCGE groups had better feed conversion rates (FCR) than the PC and NC ($P < 0.05$). The amount of *Lactobacillus* spp. in the cecum of SCGE1.0 and SCGE2.0 was greater than ($P < 0.05$) PC, with the NC and SCGE0.5 having the lowest ($P < 0.05$). Alanine aminotransferase (ALT) activity of SCGE0.5, SCGE1.0 and SCGE2.0 were lower than the NC ($P < 0.05$). The aspartate transaminase (AST) activity of SCGE2.0 was the lowest ($P < 0.05$). The villus height and crypt depth of the jejunum of all SCGE groups were greater than that of those of NC and PC. In conclusion, SCGE supplementation at 2.0 g/kg diet improved the final weight, ADG, FCR, and microbial balance. Therefore, it is considered to have the potential to replace antibiotics in broiler chicken feed.

Keywords: spent coffee ground extract; antibiotic substitute; broiler chicken; intestinal morphology

บทนำ

ปัจจุบัน อุตสาหกรรมไก่เนื้อมีแนวโน้มเติบโตอย่างต่อเนื่อง แต่ยังคงพบปัญหาการใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโต และป้องกันโรคในไก่เนื้ออย่างต่อเนื่อง ทั้งนี้การใช้ยาปฏิชีวนะที่มากเกินไปในสัตว์ปีกก่อให้เกิดเชื้อแบคทีเรียดื้อยา (Antimicrobial resistance; AMR) ซึ่งสามารถดักค้ำและก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพของผู้บริโภคได้ (Low et al., 2021) ดังนั้นจึงยังคงจำเป็นต้องค้นหาสารทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในอาหารสัตว์มาอย่างต่อเนื่อง ทั้งนี้อีกหนึ่งทางเลือกที่น่าสนใจคือการใช้สารเสริมกลุ่มผลิตภัณฑ์จากกาแฟ เนื่องจากกระบวนการผลิตกาแฟสำเร็จรูปก่อให้เกิดของเสียปริมาณมาก ซึ่งโดยทั่วไปแล้วกากกาแฟสำหรับการบริโภคสามารถให้สารกาแฟได้เพียงประมาณ 30% เท่านั้น ในขณะที่อีก 70% เป็นวัสดุเหลือทิ้งจากกาแฟ โดยเฉพาะกากกาแฟที่ใช้แล้ว (Spent coffee ground; SCG) ที่มีมากถึง 45% ที่ยังมีการนำมาใช้ประโยชน์น้อย ดังนั้นกากกาแฟใช้แล้วที่เกิดขึ้นในปริมาณมากนั้นจำเป็นต้องได้รับการพัฒนาเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างเต็มที่ ทั้งนี้กากกาแฟถือเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระที่ค่อนข้างสูง เนื่องจาก มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ ได้แก่ สารกลุ่มฟีนอลิก กรดแทนนิก กรดคลอโรจีนิก คาเฟอีน โพลีแซ็กคาไรด์ และเมลานินดิน (Azuan et al., 2020) จึงถือเป็นวัตถุดิบที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพกลับมาใช้ใหม่ นอกจากนี้ยังประกอบด้วย โยอาหาร 88% โดยจัดเป็นเส้นใยที่ไม่ละลายน้ำเป็นส่วนใหญ่ 41.6% ได้แก่แมนโนส กาแลคโตส กลูโคส และอาราบินโนสที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาพอลิเมอร์เป็นเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลส รวมถึงกาแลคโตแมนแนนที่มีในปริมาณสูงอีกด้วย (Campos-Vega et al., 2015; Iriondo-DeHond et al., 2019) นอกจากนี้สารออกฤทธิ์ที่อยู่ในกากกาแฟข้างต้นมีประโยชน์ต่อสุขภาพของสัตว์ ตัวอย่างเช่น กรดคลอโรจีนิกมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและช่วยปรับปรุงการทำงานของหัวใจ เมลานินดินที่เกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดในกระบวนการคั่วเมล็ดกาแฟ ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (Moreira et al., 2012) จากการศึกษาของ Burniol-Figols et al. (2016) ระบุว่ากากกาแฟมีปริมาณโคลโลจีนิกประมาณ 54.6 มก./ก. อีกทั้ง Mitraka et al. (2021) ยังระบุว่ากากกาแฟมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 166.77 มก. GAE/L (หรือตัวอย่างแห้ง 52.29 มก. GAE/g) ซึ่งยืนยันได้ว่ากากกาแฟมีสารต้านอนุมูลอิสระที่ค่อนข้างสูง นอกจากนี้ Bhandarkar et al. (2020) ระบุว่ากากกาแฟสามารถปรับปรุงจุลินทรีย์ในลำไส้ มวลไขมันในช่องท้อง ความดันโลหิต และไตรกลีเซอไรด์ในเลือดดีขึ้น และมีผลต่อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้ ได้แก่กลุ่ม *Bifidobacterium* (Pérez-Burillo et al., 2019; Bevilacqua et al., 2023) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์เหล่านี้ส่งผลต่อการผลิตกรดไขมันสายสั้น ที่ปรับปรุงองค์ประกอบ และการทำงานของจุลินทรีย์ในลำไส้ ส่งผลทำให้จุลินทรีย์ก่อโรคในกลุ่ม *Clostridium* และ *Escherichia coli* ลดลง แต่อย่างไรก็ตาม การศึกษาผลของสารสกัดจากกากกาแฟในสัตว์ยังมีอยู่อย่างจำกัด ส่วนใหญ่มักพบในสัตว์เคี้ยวเอื้อง เช่น การเสริมกากกาแฟในแพะนม 100 กรัมต่อวัน พบว่าไม่มีผลเสียต่อการผลิตน้ำนมและสุขภาพของแพะ (Carta et al., 2022) กากกาแฟที่ความเข้มข้น

100 กรัม/กก. ในอาหารทั้งหมดช่วยเพิ่มการผลิตน้ำมันในแมคโนมโดยไม่กระทบต่อพฤติกรรมกินอาหารของแมโค หรือการย่อยได้อย่างชัดเจน (de Otálora et al., 2020) ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อศึกษาผลของการเสริมสารสกัดจากกาแฟต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต ต้นทุนการเลี้ยง ค่าโลหิตวิทยา ปริมาณเชื้อจุลชีพในไส้ตัน และสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กในไก่เนื้อ เปรียบเทียบกับกลุ่มที่เสริมยาปฏิชีวนะในระดับที่สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ เพื่อยืนยันผลการใช้สารสกัดจากกาแฟทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในไก่เนื้อซึ่งจะเป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการเลี้ยงไก่เนื้ออย่างยั่งยืน

วิธีการศึกษา

การเตรียมสารสกัดจากกากกาแฟ

นำกากกาแฟที่เหลือใช้ มาอบที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 48 ชม. จากนั้นนำไปบดให้มีขนาดเล็กลงผ่านตะแกรงขนาด 1.0 มม. จากนั้นกากกาแฟถูกสกัดตามวิธีการของ Geremu et al. (2016) และ Vijayalaxmi et al. (2015) โดยใส่กากกาแฟใช้แล้วในสารละลายเมทานอล 80% ใช้สัดส่วนของแข็งต่อของเหลวเป็น 1:10 ก./มล. แช่กากกาแฟในสารละลายเป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นกรองโดยใช้กระดาษกรอง Whatman No. 4 แล้วระเหยสารละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary Evaporator) จากนั้นทำแห้งด้วยเทคนิคแช่เยือกแข็ง (freeze dehydration) ดังแสดงใน **Figure 1** ทั้งนี้ตัวอย่างจะถูกนำไปวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกโดยรวม (Total phenol content; TPC) และความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระ (DPPH radical scavenging activity) ตามวิธีการของ Brand-Williams et al. (1995) และ Lamuela-Raventós (2018) ตามลำดับ

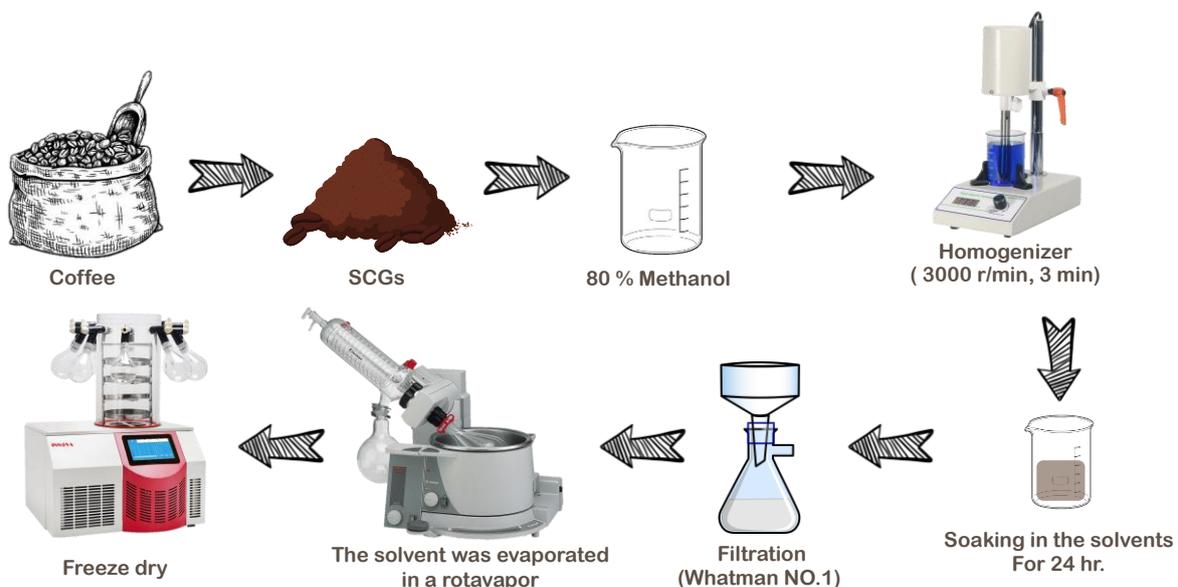


Figure 1 The process of preparing spent coffee ground extracts and freeze-drying.

สัตว์ทดลองและการวางแผนการทดลอง

ดำเนินการเตรียม ไก่เนื้อเพศผู้ อายุ 1 วัน (สายพันธุ์ Ross 308) จำนวน 500 ตัว ซึ่งการทดลองนี้ทำการทดลองเลี้ยงสัตว์ภายใต้มาตรฐานการเลี้ยงสัตว์ทดลองและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (AG02008/2566) โดยสุ่มไก่เนื้อออกเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ตัว ซึ่งวางแผนทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) ดังนี้

กลุ่มที่ 1 อาหารควบคุมเชิงลบได้รับอาหารพื้นฐานที่ไม่มียาปฏิชีวนะ (CON)

กลุ่มที่ 2 อาหารควบคุมเชิงบวกเสริมด้วยยาปฏิชีวนะ (Octamix A.C. ประกอบด้วย โคลิสติน 100×10^3 IU และอะม็อกซิซิลลิน 25 มก./กก. อาหาร) (AGPs)

กลุ่มที่ 3 กลุ่มอาหารควบคุมเชิงลบเสริมด้วยสารสกัดจากกากกาแฟที่ระดับ 0.5 ก./กก.อาหาร (SCGE 0.5)

กลุ่มที่ 4 กลุ่มอาหารควบคุมเชิงลบเสริมด้วยสารสกัดจากกากกาแฟที่ระดับ 1.0 ก./กก.อาหาร (SCGE 1.0)

กลุ่มที่ 5 กลุ่มอาหารควบคุมเชิงลบเสริมด้วยสารสกัดจากกากกาแฟที่ระดับ 2.0 ก./กก.อาหาร (SCGE 2.0)

อาหารทดลองแบ่งออกเป็น 2 ระยะ ได้แก่ ระยะไก่เล็ก (1-14 วัน) และระยะไก่รุ่น (15-35 วัน) โดยองค์ประกอบและระดับโภชนะของอาหารกลุ่มควบคุมเชิงลบแต่ละระยะเป็นไปตามความต้องการของไก่เนื้อ (NRC, 1994) ดังแสดงใน **Table 1** ทั้งนี้ไก่ทดลองได้รับอาหารและน้ำแบบเต็มที่ (*ad libitum*) ตลอดการเลี้ยง เป็นระยะเวลา 35 วัน โดยทำการบันทึกน้ำหนักไก่โดยชั่งน้ำหนักทุกสัปดาห์ บันทึกปริมาณอาหารที่กินทุกวัน เพื่อคำนวณหาปริมาณการกินได้ต่อวัน (Average Daily Feed Intake, ADFI) อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (Average Daily Gain, ADG) และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (Feed Conversion Ratio, FCR) รวมทั้งการบันทึกสุขภาพของไก่ในช่วงทดลอง

การวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยา (Blood chemistry)

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สุ่มเก็บตัวอย่างเลือดจากไก่เนื้อจำนวนซ้ำละ 1 ตัว หรือ 10 ตัวต่อกลุ่มการทดลอง โดยทำการเก็บจากหลอดเลือดดำที่ปีก (Wing vein) และใส่ในหลอดเก็บเลือดที่ไม่มีสารกันเลือดแข็ง (Anticoagulant) ซีรัมถูกแยกออกผ่านการปั่นแยกที่ 3,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที นำซีรัมที่ได้วิเคราะห์ค่าของแอสปาร์เตตทรานซามิเนส (Aspartate transaminase; AST), ยูเรียไนโตรเจนในเลือด (Blood urea nitrogen; BUN), ครีเอตินีน (Creatinine; CR), อะลานีน อะมิโนทรานสเฟอเรส (Alanine aminotransferase; ALT), อัลคาไลน์ ฟอสฟาเตส (Alkaline phosphatase; ALP), โปรตีนโดยรวม (Total protein; TP), อัลบูมิน (Albumin; Alb) และโกลบูลิน (Globulin), คอเลสเตอรอลชนิดที่มีความหนาแน่นสูง (HDL-C; High-density lipoprotein cholesterol), ค่าคอเลสเตอรอลชนิดที่มีความหนาแน่นต่ำ (LDL-C; Low-density lipoprotein cholesterol), คอเลสเตอรอลรวม (Total cholesterol; TC) และไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride; TG) ตามวิธีของ Latimer (2011)

Table 1 Composition of nutrients and ingredients in the diets for broiler starters and finishers

Experimental diets	Starter (1–14 d)	Finisher (15–35 d)
Ingredients		
Yellow corn	57.17	59.58
Raw rice bran	5.00	5.00
Soybean meal (48% CP)	28.62	20.74
Rapeseed meal (38% CP)	3.20	6.00
Pork meal (50% CP)	3.00	4.00
Soybean oil	-	2.94
Salt	0.26	0.14
L-lysine	0.10	0.08
DL-methionine	0.25	0.15
Biofoss (21% P) ^{1/}	0.70	0.02
Calcium carbonate	1.07	0.64
Premixes ^{2/}	0.63	0.71
Total	100	100
Calculated composition		
Metabolizable energy (kcal/kg)	2,848.33	2,910.46
Calcium (%)	0.61	0.41
Available phosphorus (%)	0.59	0.39
Sodium (%)	0.20	0.18
Chlorine (%)	0.27	0.23
Digestible lysine (%)	1.20	1.12
Digestible Met (%)	0.57	0.48
Digestible Met + Cys (%)	0.92	0.80
Digestible tryptophan (%)	0.26	0.25
Digestible linoleic (%)	1.56	1.64
Choline (mg/kg)	956.90	927.80
Analyzed composition (as fed basis)		
Gross energy (cal/g)	4,147.67	4,324.00
Crude protein (%)	22.17	19.51
Crude fiber (%)	2.22	3.15

^{1/}Biofoss supplies per kg of diet: monocalcium phosphate 1,000g, calcium 150 g, phosphorus 210 g, fluorine 0.21%.

^{2/}Mineral premix supplies per kg of diet: vitamin A 20,000,000 IU, vitamin D3 4,000,000 IU, vitamin E 11,000 IU, vitamin K3 4.00 g, vitamin B1 5.00 g, vitamin B2 10.00 g, vitamin B6 5.00 g, vitamin B12 0.02 g, vitamin C 15.00 g, pantothenic acid 15.00 g, folic acid 3.00 g, nicotinic acid 40.00 g, biotin 0.20 g, magnesium 100.00 g, potassium 90.00 g, sodium 100.00 g, and feed additive 25.30 g.

การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในไส้ตัน (Microbial counts in cecum)

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (35 วัน) สุ่มไก่เนื้อจำนวน 10 ตัวต่อกลุ่มการทดลอง เก็บตัวอย่างของเหลวในไส้ตัน 1.0 ก. ตามวิธีการของ Giannenas et al. (2010) จากนั้นเจือจางตัวอย่างด้วยสารละลายเปปโตน (เปปโตน 0.1% และ NaCl 0.85%) และหาปริมาณเชื้อ

Escherichia coli, *Salmonella* spp. และ *Lactobacillus* spp. โดยบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นระยะเวลา 72 ชม. และตรวจนับจำนวนโคโลนี (log CFU/g) ของเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ในไส้ตัน

การวิเคราะห์สัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก (Intestinal morphology)

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (35 วัน) สุ่มไก่เนื้อจำนวน 10 ตัวต่อกลุ่มการทดลอง อดอาหารไก่เป็นระยะเวลา 12 ชม. ดำเนินการเก็บตัวอย่างลำไส้เล็กและวิเคราะห์สัณฐานวิทยาตามวิธีการของ Srinual et al. (2022) โดยทำการเก็บตัวอย่างลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenum) ส่วนกลาง (jejunum) และส่วนปลาย (ileum) ล้างลำไส้ด้วยน้ำเกลือบัฟเฟอร์ฟอสเฟต (Phosphate-buffered saline; PBS) และเก็บไว้เป็นเวลา 24 ชม. ในฟอร์มาลิน 10% และฝังเนื้อเยื่อในพาราฟิน ตัดเนื้อเยื่อให้มีความหนา 4 μm และย้อมโดยใช้เทคนิค H&E ตรวจสอบส่วนเนื้อเยื่อวิทยาด้วยกล้องกำลังขยาย 10 เท่า จากนั้นใช้กล้องดิจิทัลคุณภาพสูง (Canon EOS-6D, Canon USA, Inc.) สำหรับถ่ายภาพลำไส้เล็ก และนำไปวัดค่าความสูงของวิลโล (Villus height) ความกว้างของวิลโล (Villus width) ความลึกของคริปต์ (Crypt depth) และความหนาของชั้นกล้ามเนื้อ (Muscularis mucosae thickness) ด้วยซอฟต์แวร์ Motic Images Plus 2.0 (Motic China Group Co., Fujian, China) ดังแสดงใน **Figure 2**



Figure 2 Examination of a segment of the small intestine through histology conducted with a 10x objective lens. The scale bars provided in the images correspond to a measurement of 200 μm .

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้อาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance: ANOVA) โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของกลุ่มทดลองด้วยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS version 23.0 (SPSS Inc., Chicago, IL)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ปริมาณฟีนอลิกโดยรวม และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกาแฟใช้แล้ว

ตามผลลัพธ์ที่ได้จากการวิเคราะห์สารสกัดในเมทานอลดัง **Table 2** พบว่าสารสกัดมีปริมาณฟีนอลทั้งหมด (Total phenol content; TPC) อยู่ที่ 26.62 mg GE/g และ DPPH มีปริมาณ 204.89 $\mu\text{mol TE/g}$ จากรายงานปริมาณ TPC และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) ของสารสกัดกาแฟใช้แล้ว ในการศึกษาก่อนหน้านี้ TPC และ DPPH ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับรายงานของ Severini et al. (2017) ค่า TPC และ DPPH ที่ได้มาจากการสกัดด้วยเมทานอลจะอยู่ที่ 19–25 mg GAE/g และ 81–146 $\mu\text{mol TE/g}$ นอกจากนี้ การสกัดที่มีประสิทธิภาพเกิดจากความเข้มข้นของเมทานอลสูงสุด เนื่องจากการละลายของฟีนอล และสารต้านอนุมูลอิสระมีปริมาณมากขึ้นในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วน้อยกว่าน้ำ

Table 2 Total phenol content (TPC) and antioxidant activities determined according to the DPPH methods of spent coffee extract

Parameter	TPC (mg GE/g)	DPPH ($\mu\text{mol TE/g}$)
Spent coffee ground extract	26.62 \pm 0.04	204.89 \pm 0.10

สมรรถภาพการเจริญเติบโต

จากผลการศึกษาการเสริมสารสกัดจากกากกาแฟ (SCGE) ที่ระดับ 0.5, 1.0 และ 2.0 ก./กก. ช่วยเพิ่มน้ำหนักตัวสุดท้ายเมื่อเทียบกับกลุ่ม NC 8.05%, 9.20%, และ 8.05% ตามลำดับ ดังแสดงใน **Table 3** ในการศึกษาในระยะแรก (1-15 วัน) การเสริม SCGE ส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโต ปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ยต่อวัน และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) จากการศึกษาสมรรถภาพการเจริญเติบโตในระยะที่ 2 (15-35 วัน) พบว่า กลุ่ม SCGE ทุกระดับมีปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ยต่อวันต่ำกว่ากลุ่ม NC และ PC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) อีกทั้งช่วยปรับปรุงอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม NC และ PC ($P < 0.05$) นอกจากนี้ เมื่อพิจารณาตลอดระยะเวลาการทดลอง (1-35 วัน) พบว่ากลุ่ม SCGE ที่ระดับ 0.5, 1.0 และ 2.0 ก./กก. มีค่าปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ยต่อวันต่ำกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่ม NC 6.04%, 8.66%, และ 8.25% ตามลำดับ อัตราการเจริญเติบโตสูงกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่ม NC 8.25%, 9.43%, และ 8.25% ตามลำดับ และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวในกลุ่มที่มีการเสริม SCGE ต่ำกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่ม NC 13.02%, 16.57%, และ 14.79% ตามลำดับ ($P < 0.05$) ทั้งนี้จากที่กากกาแฟ ประกอบไปด้วยคาเฟอีน กรดฟีนอลิก กรดคลอโรเจนิค (chlorogenic acid; CGA) และเมลานอยดิน ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ (Bevilacqua et al., 2023) จะเห็นว่าการเสริมสารสกัดจากกากกาแฟทำให้อัตราการเจริญเติบโตและ ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวของไก่เนื้อดีขึ้น โดยน้ำหนักตัวสุดท้ายของกลุ่มที่ได้รับการเสริม SCGE ทุกระดับ มีค่าสูงกว่า เมื่อเทียบกับกลุ่ม NC เนื่องจากคุณสมบัติความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารดังกล่าวสามารถช่วยปกป้องเซลล์จากความเสียหายจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน รักษาสมดุลของรีดอกซ์ และกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน อีกทั้งยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหาร ของสัตว์ (Ponnampalam et al., 2022) ซึ่งสามารถยืนยันได้จากผลการศึกษาประชากรเชื้อจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารของไก่ พบว่าการเสริมสารสกัดจากกากกาแฟช่วยเพิ่มปริมาณ เพิ่มจุลินทรีย์ *Lactobacillus* ในลำไส้ของไก่เนื้อ เนื่องจาก *Lactobacillus* ถือเป็นจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพเป็นโปรไบโอติก สามารถช่วยส่งเสริมการดูดซึมสารอาหารดีขึ้น อีกทั้งยังช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันของไก่ให้ดียิ่งขึ้น (Anee et al., 2021; Munir et al., 2022) ทั้งนี้ยังสอดคล้องกับผลของการศึกษา สันฐานวิทยาของลำไส้ไก่เนื้อที่เสริมด้วยสารสกัดจากกากกาแฟมีการเพิ่มขึ้นของวิลโลในลำไส้แสดงถึงความสามารถในการดูดซึมที่มีประสิทธิภาพที่เพิ่มขึ้น (Liu et al., 2022a) ซึ่งยืนยันถึงสุขภาพของระบบทางเดินอาหารที่ดีขึ้นของไก่เนื้อ ทำให้ไก่เนื้อมีการเจริญเติบโตดีขึ้นตามไปด้วย จากการศึกษาของ Zha et al. (2023) ชี้ให้เห็นว่าการเสริม Chlorogenic acid (CGA) ที่ระดับ 0 - 1.0 ก./กก. ทำให้

ปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ยต่อวัน อัตราการเจริญเติบโต และน้ำหนักตัวของไก่เนื้อในช่วง 1-21 วันเพิ่มขึ้นในเชิงเส้นตรง ($P < 0.05$) สอดคล้องกับ Liu et al. (2023a) ที่ระบุว่า การเสริม CGA ในอาหารไก่เนื้อที่ระดับ 0.5 ก./กก. ช่วยเพิ่มน้ำหนักตัวเฉลี่ย และอัตราการเจริญเติบโต และลดประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักของไก่เนื้อในช่วง 1-14 วัน อีกทั้ง Liu et al. (2022b) ยังระบุว่า การเสริม CGA ในอาหารไก่เนื้อเพิ่มความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและลดระดับการตายของเซลล์โดยการกระตุ้นผ่านกลไก Nrf2 ในไก่เนื้อที่กระตุ้นให้เกิดความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยเดกซาเมทาโซน ซึ่งส่งผลอย่างชัดเจน ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตและสุขภาพของลำไส้ในไก่เนื้อ นอกจากนี้ การเสริม CGA ที่ระดับ 1.0 ก./กก. ช่วยปรับปรุงการทำงานของเยื่อลำไส้ได้บางส่วน ส่งผลให้ลดภาวะการติดเชื้อที่ผิดปกติของลำไส้ เพิ่มประสิทธิภาพการดูดซึมอาหารและปรับปรุงสมรรถภาพการเจริญเติบโตของสุกรหย่านมได้ (Chen et al., 2018a; Chen et al., 2018b) และยังช่วยปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ (Chen et al., 2021)

Table 3 Impact of spent coffee ground extract supplement on growth performance in broiler chickens

Parameter	NC	PC	SCGE0.5	SCGE1.0	SCGE2.0	SEM	P-value
Initial wt. (g)	46.40	47.00	46.80	46.60	46.80	0.446	0.991
Final wt. (g)	1,740.00 ^b	1,760.00 ^b	1,880.00 ^a	1,900.00 ^a	1,880.00 ^a	18.903	0.003
1-14 days							
ADG (g/d)	34.63	34.96	34.53	34.66	34.31	0.288	0.977
ADFI (g/d)	36.48	37.37	36.55	36.41	35.23	0.400	0.604
FCR	1.06	1.07	1.06	1.05	1.03	0.014	0.911
15-35 days							
ADG (g/d)	57.56 ^b	58.27 ^b	64.28 ^a	65.15 ^a	64.42 ^a	0.924	0.003
ADFI (g/d)	112.00 ^a	115.66 ^a	103.73 ^b	100.25 ^b	101.59 ^b	1.383	<0.001
FCR	1.95 ^a	1.99 ^a	1.62 ^b	1.54 ^b	1.59 ^b	0.045	<0.001
1-35 days							
ADG (g/d)	48.39 ^b	48.94 ^b	52.38 ^a	52.95 ^a	52.38 ^a	0.538	0.003
ADFI (g/d)	81.80 ^a	84.34 ^a	76.86 ^b	74.71 ^b	75.05 ^b	0.886	<0.001
FCR	1.69 ^a	1.72 ^a	1.47 ^b	1.41 ^b	1.44 ^b	0.031	<0.001
Mortality rate	1.00	0.00	0.00	0.00	1.33	0.327	0.563

NC: Negative control, PC: Positive control, SCGE 0.5: Supplemented with spent coffee ground extract at 0.5 g/kg, SCGE 1.0: Supplemented with spent coffee ground extract at 1.0 g/kg, and SCGE 2.0: Supplemented with spent coffee ground extract at 2.0 g/kg. ADG: average daily gain, ADFI: average daily feed intake, FCR: feed conversion ratio. SEM: standard error of the mean, ^{a, b, c} means within a row with different superscripts are significantly different at $P < 0.05$.

ค่าโลหิตวิทยา

กลุ่ม SCGE0.5 มีค่า ALT ต่ำที่สุด ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างกับกลุ่ม SCGE1.0 และ SCGE2.0 (Table 4) นอกจากนี้ กลุ่ม SCGE2.0 มีค่า AST ในเลือดต่ำกว่ากลุ่ม NC และ PC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) อย่างไรก็ตาม ค่าคอเรสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ HDL-C, LDL-C, ALP, Globulin, CR, TP และ Alb ไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มทดลอง ($P > 0.05$) สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ชี้ให้เห็นว่า CGA ช่วยลดการอักเสบของเซลล์ตับและการสะสมไขมันในตับ จึงทำให้ระดับของเอนไซม์ ALT และ AST มีค่าลดลง

(Shi et al., 2013; Bhandarkar et al., 2019) ถึงแม้ว่าระดับของ AST มีค่าต่ำกว่าเมื่อเทียบกับระดับปกติ (52 - 270 U/L) แต่พบว่าระดับ ALT ในทุกกลุ่มมีค่าสูงกว่าเมื่อเทียบกับระดับปกติ (6.5 - 263 U/L) (Zheng et al., 2012) อีกทั้ง Nasr (2014) ระบุว่าคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดจากกระเทียมที่ระดับ 0.25 ก./กก. ส่งผลให้ AST และ ALT ในซีรัมสัตว์ลดลงเนื่องมาจากฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ช่วยลดความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระในตับ จึงทำให้การซึมผ่านของ เยื่อหุ้มเซลล์มีความเสถียรและลดการรั่วไหลของเอนไซม์เข้าสู่กระแสเลือด อย่างไรก็ตาม Ashour et al. (2020) ระบุว่า การเสริมผงกาแฟเขียวที่มี CGA เป็นองค์ประกอบหลักไม่ส่งผลต่อค่าโลหิตวิทยา สอดคล้องกับผลการเสริม SCGE ซึ่งพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงที่สำคัญในค่าโลหิตวิทยาเช่นกัน

Table 4 Impact of spent coffee ground extract supplement on serum biochemistry and lipid profile of broiler chickens

Parameter	NC	PC	SCGE0.5	SCGE1.0	SCGE2.0	SEM	P-value
Serum biochemistry							
ALT (U/L)	3.50 ^a	3.00 ^{ab}	2.00 ^c	2.33 ^{bc}	2.30 ^{bc}	0.171	0.007
Globulin (g/dl)	1.93	1.87	1.83	1.90	1.87	0.034	0.938
ALP (U/L)	1,897.33	1,859.33	1,864.67	1,826.00	1,817.00	16.002	0.576
Creatinine (mg/dl)	0.32	0.49	0.47	0.46	0.34	0.029	0.212
Total protein (g/dl)	3.33	3.27	3.03	3.10	3.07	0.056	0.380
BUN (mg/dl)	1.03	0.83	0.87	1.07	1.10	0.071	0.729
Albumin (g/dl)	1.20	1.30	1.20	1.13	1.20	0.025	0.358
AST (U/L)	338.00 ^a	323.50 ^a	307.00 ^a	291.33 ^a	244.67 ^b	8.679	0.005
Lipid profile							
Total cholesterol (mg/dl)	123.67	122.00	120.67	121.33	122.67	1.626	0.988
Triglyceride (mg/dl)	70.33	70.67	69.67	72.33	70.33	0.637	0.798
HDL-C (mg/dl)	83.63	81.03	76.40	74.80	77.20	1.959	0.667
LDL-C (mg/dl)	38.00	38.87	36.80	34.87	33.63	0.852	0.282

NC: Negative control, PC: Positive control, SCGE 0.5: Supplemented with spent coffee ground extract at 0.5 g/kg, SCGE 1.0: Supplemented with spent coffee ground extract at 1.0 g/kg, and SCGE 2.0: Supplemented with spent coffee ground extract at 2.0 g/kg. HDL-C: high-density lipoprotein, LDL-C: low-density lipoprotein, ALT: alanine aminotransferase, ALP: Alkaline phosphatase, BUN: blood urea nitrogen, AST: aspartate aminotransferase. SEM: standard of error mean, ^{a, b, c} means within a row with different superscripts are significantly different at P<0.05.

ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในไส้ตัน

กลุ่ม SCGE 0.5, 1.0 และ 2.0 มีปริมาณเชื้อ *E. coli* และ *Salmonella* spp. ต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม NC และ PC ดังแสดงใน **Figure 3** อีกทั้งยังพบว่ากลุ่ม SCGE1.0 และ SCGE2.0 มีปริมาณเชื้อ *Lactobacillus* spp. ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อทางเดินอาหารของไก่มากกว่า (P<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม NC และ PC ทั้งนี้ เนื่องจากกากกาแฟอุดมไปด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีศักยภาพ โดยเฉพาะสารกลุ่มโพลีฟีนอลที่มีคุณสมบัติในการสารต้านอนุมูลอิสระ และต้านจุลินทรีย์ (de Cosío-Barrón et al., 2020; Bevilacqua et al., 2023) สอดคล้องกับการศึกษาของ Wang et al. (2019) ที่ระบุว่า สารสกัดจาก จีนอินฮวา (*Lonicera japonica* Thunb.) ที่ระดับ 1.0 ก./กก. ที่มีส่วนประกอบของ CGA สามารถลดปริมาณของ *S. pullorum* ในลำไส้เล็กของไก่ได้ อีกทั้ง CGA คาแฟอิน และเมลานอยดินที่เป็นองค์ประกอบหลักในสารสกัดจากกากกาแฟยังมีคุณสมบัติ

เป็นสารต้านจุลชีพช่วยลดปริมาณเชื้อก่อโรคได้ (Durán-Aranguren et al., 2021; Bevilacqua et al., 2023) คาเฟอีนสามารถทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย หรือรบกวนกระบวนการเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียได้ (Ashour et al., 2020) ส่วน CGA สามารถทำลายโครงสร้างผนังเซลล์ และเยื่อหุ้มเซลล์ของ *E. coli* ได้ (Zheng et al., 2016)

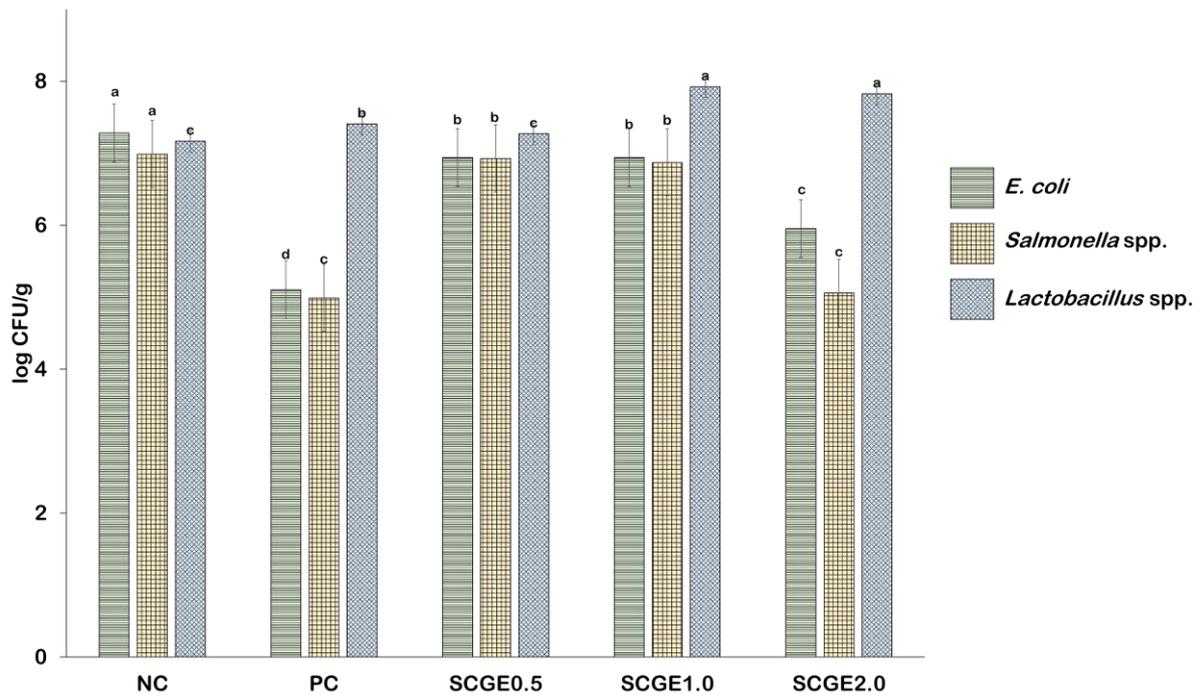


Figure 3 Impact of spent coffee ground extract supplement on caecum microbial count of broiler chickens. ^{a,b,c} Means with different superscripts indicate a significant difference ($P < 0.05$). NC: Negative control, PC: Positive control, SCGE0.5: Supplemented with spent coffee ground extract at 0.5 g/kg, SCGE1.0: Supplemented with spent coffee ground extract at 1.0 g/kg, and SCGE2.0: Supplemented with spent coffee ground extract at 2.0 g/kg.

สัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กของไก่เนื้อ

ที่ลำไส้เล็กส่วนต้น (Duodenum) พบว่ากลุ่ม SCGE2.0 มีค่า VH ที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม NC ที่ 13.39% และ PC ที่ 15.77% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงใน **Table 5** กลุ่ม SCGE2.0 และ PC มีค่า CD มากกว่า ($P < 0.05$) กลุ่ม SCGE0.5, SCGE1.0 และ NC โดยกลุ่ม SCGE2.0 มีค่า CD มากกว่ากลุ่ม NC ถึง 10.56% อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างทางสถิติของค่า VW, MM และ VH:CD ($P < 0.05$) ระหว่างกลุ่มทดลอง ส่วนที่ลำไส้เล็กส่วนกลาง (Jejunum) พบว่ากลุ่ม SCGE1.0 มีค่า VH มากที่สุด ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่ม SCGE0.5 ทั้งนี้กลุ่ม NC และ PC มีค่า VH น้อยที่สุด ($P < 0.05$) แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่ม SCGE2.0 โดย SCGE1.0 มีค่า VH มากกว่ากลุ่ม NC ถึง 25.84% กลุ่มที่เสริม SCGE ระดับ 0.5, 1.0 และ 2.0 ก./กก. มีค่า CD มากกว่า ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่ม NC 49.91%, 45.40% และ 55.55% ตามลำดับ กลุ่ม SCGE0.5 และ SCGE1.0 มีค่า MMT มากกว่า ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่ม NC 13.39% และ 15.77% ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่ม PC ส่วนที่ลำไส้เล็กส่วนปลาย (Ileum) พบว่ากลุ่ม PC มีค่า CD มากที่สุด ($P < 0.05$) รองลงมาได้แก่ กลุ่ม SCGE2.0, SCGE1.0 และ SCGE0.5 ตามลำดับ การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าการเสริมสารสกัดจากกากกาแฟช่วยเพิ่มความสูงและความกว้างของวิลไล ความลึกของเซลล์คริปต์ ประสิทธิภาพในการย่อยอาหาร และการดูดซึมของลำไส้เล็กสามารถวัดได้จากความสูงของวิลไลในลำไส้ ความลึกของเซลล์คริปต์ และอัตราส่วนของความสูงของวิลไลต่อความลึกของเซลล์คริปต์ (Farahat et al., 2021) Li et al. (2023) ยังชี้ให้เห็นว่าความเครียดระหว่างการเลี้ยงส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของลำไส้ เพิ่มระดับการอักเสบ และเปลี่ยนแปลงจุลินทรีย์ในลำไส้ไก่เนื้อ ทั้งนี้สารสกัดจากกากกาแฟประกอบไปด้วย

คาเฟอีน กรดฟีนอลิก กรดคลอโรเจนิก และเมลาโนยดิน ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Bevilacqua et al., 2023) โดยสารต้านอนุมูลอิสระช่วยลดความเครียดจากออกซิเดชันในเนื้อเยื่อลำไส้ สามารถปกป้องเซลล์ลำไส้จากความเสียหาย และสามารถต้านการอักเสบที่เป็นสาเหตุให้เกิดความเสียหายต่อโครงสร้างและเซลล์เยื่อลำไส้ (Machado et al., 2023) Zhang et al. (2020) ชี้ให้เห็นว่าการเสริมอาหารด้วย CGA ที่ระดับ 1.0 ก./กก. ช่วยเพิ่มความสูงของวิลไล และรักษาความสมดุลของลำไส้เนื้อที่เป็นโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายได้ อีกทั้ง Liu et al. (2022a) ระบุว่า การเสริม CGA ในอาหารไก่เนื้อ ที่ระดับ 1.0 ก./กก. ช่วยเพิ่มความสูงของวิลไล และความสูงของวิลไลต่อความลึกของเซลล์คริปที่ได้ นอกจากนี้การเสริม CGA ในอาหารไก่เนื้อที่ระดับ 0.125, 0.25, 0.5 และ 1.0 ก./กก. ช่วยเพิ่มความสูงของวิลไลในลำไส้เล็กส่วนต้นได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Liu et al., 2023a) อย่างไรก็ตาม จุลินทรีย์ในลำไส้ นอกจากจะช่วยรักษาภาวะสมดุลแล้ว ยังมีส่วนช่วยในกระบวนการเผาผลาญ การย่อยอาหาร การดูดซึมสารอาหาร รักษาเซลล์เยื่อในลำไส้ และการควบคุมพลังงาน เพื่อป้องกันโครงสร้างของลำไส้ไม่ให้เกิดความเสียหาย ทั้งนี้ Liu et al. (2023b) รายงานว่า CGA ในอาหารช่วยลดผลกระทบจากความเครียด และช่วยเพิ่มจุลินทรีย์ที่ดีในลำไส้ของไก่เนื้อ ซึ่งนำไปสู่สุขภาพลำไส้ที่ดีขึ้นการมี *Lactobacillus* spp. ในลำไส้สามารถลดการเกาะตัวของเชื้อก่อโรค เช่น *E. coli* และ *Salmonella* ที่ผนังลำไส้ได้

Table 4 Impact of spent coffee ground extract supplement on intestinal morphology of broiler chickens

Parameter	NC	PC	SCGE0.5	SCGE1.0	SCGE2.0	SEM	P-value
Duodenum							
VH (μm)	4,124.27 ^b	4,039.70 ^b	4,160.65 ^b	4,092.49 ^b	4,676.80 ^a	69.987	0.002
VW (μm)	943.86	969.16	965.11	965.11	943.77	4.653	0.213
CD (μm)	1,060.09 ^b	1,177.47 ^a	1,090.85 ^b	1,060.16 ^b	1,172.05 ^a	17.485	0.025
MMT (μm)	101.55	106.69	104.14	100.84	106.82	2.787	0.958
VH:CD	3.89	3.43	3.82	3.86	4.00	0.068	0.050
Jejunum							
VH (μm)	5,108.53 ^c	4,752.24 ^c	6,210.23 ^{ab}	6,428.24 ^a	5,340.72 ^{bc}	205.255	0.010
VW (μm)	686.76 ^{ab}	662.00 ^c	686.76 ^{bc}	768.61 ^a	738.26 ^{ab}	11.835	0.007
CD (μm)	1,160.02 ^b	1,232.49 ^b	1,738.97 ^a	1,686.56 ^a	1,804.32 ^a	85.350	0.008
MMT (μm)	234.05 ^b	251.35 ^{ab}	265.97 ^a	264.12 ^a	233.18 ^b	4.833	0.038
VH:CD	4.45	3.96	3.63	3.81	3.03	0.212	0.336
Ileum							
VH (μm)	2,864.13	3,193.33	4,047.35	3,984.46	3,609.59	193.035	0.237
VW (μm)	748.70	743.63	780.35	763.88	750.85	17.792	0.979
CD (μm)	713.10 ^{bc}	773.57 ^a	727.03 ^b	691.73 ^c	737.93 ^b	8.086	0.001
MMT (μm)	167.93	176.87	174.45	167.60	173.31	3.706	0.939
VH:CD	4.02	4.15	5.58	5.77	4.87	0.279	0.140

NC: Negative control, PC: Positive control, SCGE 0.5: Supplemented with spent coffee ground extract at 0.5 g/kg, SCGE 1.0: Supplemented with spent coffee ground extract at 1.0 g/kg, and SCGE 2.0: Supplemented with spent coffee ground extract at 2.0 g/kg. MMT: Muscularis mucosae thickness, VH: Villus height, VW: Villus width, CD: Crypt depth, VH:CD: Villus height per crypt depth ratio. SEM: standard error of the mean, ^{a, b, c} Means within a row with different superscripts are significantly different at P<0.05.

สรุป

ผลการเสริมสารสกัดจากกากกาแฟ (SCGE) ในอาหารไก่เนื้อ เป็นระยะเวลา 35 วัน ที่ระดับ 2.0 ก./กก อาหาร สามารถเพิ่มสมรรถภาพการเจริญเติบโต ปรับปรุงสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็ก ลดการทำงานของกิจกรรมเอนไซม์ในตับ (ALT และ AST) ซึ่งบ่งบอกถึงว่า SCGE สามารถช่วยป้องกันการอักเสบของเซลล์ตับ อีกทั้งยังไม่เป็นพิษต่อเซลล์ของสัตว์ทดลอง นอกจากนี้ยังสามารถลดจำนวนเชื้อก่อโรค ในกลุ่ม *E. coli* และ *Salmonella* spp. ในระบบทางเดินอาหารของไก่เนื้อ โดยมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับการใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อเร่งการเจริญเติบโต ดังนั้นสารสกัดจากกากกาแฟจึงมีศักยภาพสูงในการใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะในอาหารไก่เนื้อ

คำขอบคุณ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย ด้านวิจัยและนวัตกรรม (ประเภท Fundamental Fund) ประจำปีงบประมาณ 2566 จากมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ภายใต้สัญญาเลขที่ FF66/045 ทั้งนี้ขอขอบคุณภาควิชาสัตวศาสตร์ และสัตวน้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สำหรับการเอื้อเฟื้อสถานที่ในการศึกษา และขอขอบคุณบริษัท แอสซัย เอสเตท และศูนย์ความเป็นเลิศศูนย์พัฒนากาแฟล้านนาไทย ภายใต้ศูนย์เทคโนโลยีเกษตรและนวัตกรรม AIC (Agritech and Innovation Center) คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สำหรับการสนับสนุนวัตถุดิบผลพลอยได้จากกากกาแฟในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Anee, I. J., S. Alam, R. A. Begum, R. M. Shahjahan, and A. M. Khandaker. 2021. The role of probiotics on animal health and nutrition. *The Journal of Basic and Applied Zoology*. 82: 1-16.
- Ashour, E. A., M. E. A. El-Hack, M. E. Shafi, W. Y. Alghamdi, A. E. Taha, A. A. Swelum, V. Tufarelli, Z. S. Mulla, W. R. El-Ghareeb, and M. T. El-Saadony. 2020. Impacts of green coffee powder supplementation on growth performance, carcass characteristics, blood indices, meat quality and gut microbial load in broilers. *Agriculture*. 10(10): 457.
- Azuan, A., Z. Mohd, M. Hasmadi, N. Rusli, and M. Zainol. 2020. Physicochemical, antioxidant and sensory characteristics of cookies supplemented with different levels of spent coffee ground extract. *Food Research*. 4(4): 1181-1190.
- Bevilacqua, E., V. Cruzat, I. Singh, R. B. Rose' Meyer, S. K. Panchal, and L. Brown. 2023. The potential of spent coffee grounds in functional food development. *Nutrients*. 15(4): 994.
- Bhandarkar, N. S., L. Brown, and S. K. Panchal. 2019. Chlorogenic acid attenuates high-carbohydrate, high-fat diet-induced cardiovascular, liver, and metabolic changes in rats. *Nutrition Research*. 62: 78-88.
- Bhandarkar, N. S., P. Mouatt, P. Goncalves, T. Thomas, L. Brown, and S. K. Panchal. 2020. Modulation of gut microbiota by spent coffee grounds attenuates diet-induced metabolic syndrome in rats. *The FASEB Journal*. 34(3): 4783-4797.
- Brand-Williams, W., M.-E. Cuvelier, and C. Berset. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*. 28(1): 25-30.
- Burniol-Figols, A., K. Cenian, I. V. Skiadas, and H. N. Gavala. 2016. Integration of chlorogenic acid recovery and bioethanol production from spent coffee grounds. *Biochemical Engineering Journal*. 116: 54-64.
- Campos-Vega, R., G. Loarca-Piña, H. A. Vergara-Castañeda, and B. D. Oomah. 2015. Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects. *Trends in Food Science and Technology*. 45(1): 24-36.

- Carta, S., E. Tsiplakou, P. Nicolussi, G. Pulina, and A. Nudda. 2022. Effects of spent coffee grounds on production traits, haematological parameters, and antioxidant activity of blood and milk in dairy goats. *Animal*. 16(4): 100501.
- Chen, F., H. Zhang, N. Zhao, X. Yang, E. Du, S. Huang, W. Guo, W. Zhang, and J. Wei. 2021. Effect of chlorogenic acid on intestinal inflammation, antioxidant status, and microbial community of young hens challenged with acute heat stress. *Animal Science Journal*. 92(1): e13619.
- Chen, J., Y. Li, B. Yu, D. Chen, X. Mao, P. Zheng, J. Luo, and J. He. 2018a. Dietary chlorogenic acid improves growth performance of weaned pigs through maintaining antioxidant capacity and intestinal digestion and absorption function. *Journal of Animal Science*. 96(3): 1108-1118.
- Chen, J., B. Yu, D. Chen, Z. Huang, X. Mao, P. Zheng, J. Yu, J. Luo, and J. He. 2018b. Chlorogenic acid improves intestinal barrier functions by suppressing mucosa inflammation and improving antioxidant capacity in weaned pigs. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 59: 84-92.
- de Cosío-Barrón, A. C. G., A. M. Hernández-Arriaga, and R. Campos-Vega. 2020. Spent coffee (*Coffea arabica* L.) grounds positively modulate indicators of colonic microbial activity. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 60: 102286.
- de Otálora, X. D., R. Ruiz, I. Goiri, J. Rey, R. Atxaerandio, D. San Martin, M. Orive, B. Iñarra, J. Zufia, J. Urkiza, and A. García-Rodríguez. 2020. Valorisation of spent coffee grounds as functional feed ingredient improves productive performance of Latxa dairy ewes. *Animal Feed Science and Technology*. 264: 114461.
- Durán-Aranguren, D. D., S. Robledo, E. Gomez-Restrepo, J. W. Arboleda Valencia, and N. A. Tarazona. 2021. Scientometric overview of coffee by-products and their applications. *Molecules*. 26(24): 7605.
- Farahat, M., D. Ibrahim, A. Kishawy, H. Abdallah, A. Hernandez-Santana, and G. Attia. 2021. Effect of cereal type and plant extract addition on the growth performance, intestinal morphology, caecal microflora, and gut barriers gene expression of broiler chickens. *Animal*. 15(3): 100056.
- Geremu, M., Y. B. Tola, and A. Sualeh. 2016. Extraction and determination of total polyphenols and antioxidant capacity of red coffee (*Coffea arabica* L.) pulp of wet processing plants. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 3: 1-6.
- Giannenas, I., D. Tontis, E. Tsalie, E. Chronis, D. Doukas, and I. Kyriazakis. 2010. Influence of dietary mushroom *Agaricus bisporus* on intestinal morphology and microflora composition in broiler chickens. *Research in Veterinary Science*. 89(1): 78-84.
- Iriondo-DeHond, A., F. S. Cornejo, B. Fernandez-Gomez, G. Vera, E. Guisantes-Batan, S. G. Alonso, M. I. S. Andres, S. Sanchez-Fortun, L. Lopez-Gomez, and J. A. Uranga. 2019. Bioaccessibility, metabolism, and excretion of lipids composing spent coffee grounds. *Nutrients*. 11(6): 1411.
- Lamuela-Raventós, R. M. 2018. Folin–Ciocalteu method for the measurement of total phenolic content and antioxidant capacity. *Measurement of Antioxidant Activity and Capacity: Recent Trends and Applications*. 107-115.
- Latimer, K. S. 2011. *Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*. John Wiley & Sons.

- Li, Y.-Q., Y. Zhang, D.-Y. Bai, Y.-H. Liu, X.-L. He, K. Ito, K.-X. Liu, H.-Q. Tan, W.-R. Zhen, and C. Zhang. 2023. Effects of dietary chlorogenic acid on ileal intestinal morphology, barrier function, immune factors and gut microbiota of broilers under high stocking density stress. *Frontiers in Physiology*. 14: 1169375.
- Liu, H., P. Chen, X. Lv, Y. Zhou, X. Li, S. Ma, and J. Zhao. 2022a. Effects of chlorogenic acid on performance, anticoccidial indicators, immunity, antioxidant status, and intestinal barrier function in coccidia-infected broilers. *Animals*. 12(8): 963.
- Liu, H., X. Li, S. Shi, Y. Zhou, K. Zhang, Y. Wang, and J. Zhao. 2022b. Chlorogenic acid improves growth performance and intestinal health through autophagy-mediated nuclear factor erythroid 2-related factor 2 pathway in oxidatively stressed broilers induced by dexamethasone. *Poultry Science*. 101(9): 102036.
- Liu, W., P. Zha, L. Guo, Y. Chen, and Y. Zhou. 2023a. Effects of different levels of dietary chlorogenic acid supplementation on growth performance, intestinal integrity, and antioxidant status of broiler chickens at an early age. *Animal Feed Science and Technology*. 297: 115570.
- Liu, Y., Y. Zhang, D. Bai, Y. Li, X. He, K. Ito, K. Liu, H. Tan, W. Zhen, and B. Zhang. 2023b. Dietary supplementation with chlorogenic acid enhances antioxidant capacity, which promotes growth, jejunum barrier function, and cecum microbiota in broilers under high stocking density stress. *Animals*. 13(2): 303.
- Low, C. X., L. T.-H. Tan, N.-S. Ab Mutalib, P. Pusparajah, B.-H. Goh, K.-G. Chan, V. Letchumanan, and L.-H. Lee. 2021. Unveiling the impact of antibiotics and alternative methods for animal husbandry: A review. *Antibiotics*. 10(5): 578.
- Machado, F., M. A. Coimbra, M. D. d. Castillo, and F. Coreta-Gomes. 2023. Mechanisms of action of coffee bioactive compounds—A key to unveil the coffee paradox. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 1-23.
- Mitraka, G.-C., K. N. Kontogiannopoulos, M. Batsioulas, G. F. Baniyas, and A. N. Assimopoulou. 2021. Spent coffee grounds' valorization towards the recovery of caffeine and chlorogenic acid: A response surface methodology approach. *Sustainability*. 13(16): 8818.
- Moreira, A. S., F. M. Nunes, M. R. Domingues, and M. A. Coimbra. 2012. Coffee melanoidins: structures, mechanisms of formation and potential health impacts. *Food and Function*. 3(9): 903-915.
- Munir, A., G. A. Javed, S. Javed, and N. Arshad. 2022. *Levilactobacillus brevis* from carnivores can ameliorate hypercholesterolemia: In vitro and in vivo mechanistic evidence. *Journal of Applied Microbiology*. 133(3): 1725-1742.
- Nasr, A. Y. 2014. Protective effect of aged garlic extract against the oxidative stress induced by cisplatin on blood cells parameters and hepatic antioxidant enzymes in rats. *Toxicology Reports*. 1: 682-691.
- NRC. 1994. *Nutrient Requirements of Poultry: Ninth Revised Edition*. National Academies Press.
- Pérez-Burillo, S., S. Pastoriza, A. Fernández-Arteaga, G. n. Luzón, N. Jiménez-Hernández, G. D'Auria, M. P. Francino, and J. A. n. Rufián-Henares. 2019. Spent coffee grounds extract, rich in mannooligosaccharides, promotes a healthier gut microbial community in a dose-dependent manner. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 67(9): 2500-2509.
- Ponnampalam, E. N., A. Kiani, S. Santhiravel, B. W. Holman, C. Lauridsen, and F. R. Dunshea. 2022. The importance of dietary antioxidants on oxidative stress, meat and milk production, and their preservative aspects in farm animals: Antioxidant action, animal health, and product quality Invited review. *Animals*. 12(23): 3279.

- Severini, C., A. Derossi, and A. G. Fiore. 2017. Ultrasound-assisted extraction to improve the recovery of phenols and antioxidants from spent espresso coffee ground: a study by response surface methodology and desirability approach. *European Food Research and Technology*. 243: 835-847.
- Shi, H., L. Dong, J. Jiang, J. Zhao, G. Zhao, X. Dang, X. Lu, and M. Jia. 2013. Chlorogenic acid reduces liver inflammation and fibrosis through inhibition of toll-like receptor 4 signaling pathway. *Toxicology*. 303: 107-114.
- Srinual, O., T. Moonmanee, C. Lumsangkul, H. V. Doan, M. Punyatong, M. Yachai, T. Chaiyaso, K. Kongtong, and W. Tapingkae. 2022. Can red yeast (*Sporidiobolus pararoseus*) be used as a novel feed additive for mycotoxin binders in broiler chickens? *Toxins*. 14(10): 678.
- Vijayalaxmi, S., S. Jayalakshmi, and K. Sreeramulu. 2015. Polyphenols from different agricultural residues: extraction, identification and their antioxidant properties. *Journal of Food Science and Technology*. 52: 2761-2769.
- Wang, W.-w., H.-j. Jia, H.-j. Zhang, J. Wang, H.-y. Lv, S.-g. Wu, and G.-h. Qi. 2019. Supplemental plant extracts from flos lonicerae in combination with baikal skullcap attenuate intestinal disruption and modulate gut microbiota in laying hens challenged by *Salmonella pullorum*. *Frontiers in Microbiology*. 10: 1681.
- Zha, P., L. Wei, W. Liu, Y. Chen, and Y. Zhou. 2023. Effects of dietary supplementation with chlorogenic acid on growth performance, antioxidant capacity, and hepatic inflammation in broiler chickens subjected to diquat-induced oxidative stress. *Poultry Science*. 102(3): 102479.
- Zhang, X., Q. Zhao, X. Ci, S. Chen, Z. Xie, H. Li, H. Zhang, F. Chen, and Q. Xie. 2020. Evaluation of the efficacy of chlorogenic acid in reducing small intestine injury, oxidative stress, and inflammation in chickens challenged with *Clostridium perfringens* type A. *Poultry Science*. 99(12): 6606-6618.
- Zheng, L., S. Oh, J. Jeon, B. Moon, H. Kwon, S. Lim, B. An, and C. Kang. 2012. The dietary effects of fermented *Chlorella vulgaris* (CBT®) on production performance, liver lipids and intestinal microflora in laying hens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 25(2): 261.
- Zheng, Y., J. Liu, M. Cao, J. Deng, and J. Kou. 2016. Extrication process of chlorogenic acid in Crofton weed and antibacterial mechanism of chlorogenic acid on *Escherichia coli*. *Journal of Environmental Biology*. 37(5): 1049.