

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง มีดังต่อไปนี้

1.1 อุปกรณ์ในการศึกษาวิธีการหมักเชื้อในลำต้นสาเก ได้แก่

1.1.1 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)

1.1.2 หม้อนึ่งความดันไอ

1.1.3 เครื่องแก้วชนิดต่าง ๆ เช่น หลอดทดลอง

1.1.4 ชุดเครื่องมือวิเคราะห์หาโปรตีนในอาหารสัตว์

1.1.5 ถาดและชั้นวางถาด

1.1.6 เครื่องบดอาหารสัตว์เพื่อวิเคราะห์

1.2 อุปกรณ์ในการทดลองเลี้ยงนกกระทา ได้แก่

1.2.1 โรงเรือนเลี้ยงสัตว์ปีก ของแผนกวิชาเทคโนโลยีการเกษตร ภาควิชา

เทคโนโลยีและการอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี

1.2.2 กรงเลี้ยงนกกระทาระยะเจริญเติบโต จำนวน 15 กรง และกรงนกกระทาไข่ จำนวน 15 กรง แบ่งเป็น 4 ชั้น ๆ ละ 8 กรง

1.2.3 ถังใส่อาหารประจำของนกกระทาแต่ละกรง

1.2.4 เครื่องชั่งน้ำหนักตัวนกกระทา ขนาด 7 กิโลกรัม

1.2.5 เครื่องชั่งน้ำหนักอาหารทดลองขนาด 100 กิโลกรัม

1.2.6 เครื่องชั่งไฟฟ้า สำหรับชั่งไข่นกกระทา

1.2.7 Roche yolk color fan

1.2.8 อุปกรณ์ในการผสมอาหาร

- 1.2.9 ตู้อบแห้งอาหารสัตว์
- 1.2.10 เครื่องบดอาหารสัตว์
- 1.2.11 หม้อนึ่ง สำหรับนึ่งเยื่อในลำต้นสาकु
- 1.2.12 อุปกรณ์ในการเก็บไข่นกกระทา
- 1.2.13 ไฟกก

2. วิธีการทดลอง มีดังต่อไปนี้

การทดลองที่ 1

การศึกษาวิธีการหมักเพื่อเพิ่มโปรตีนในเยื่อในลำต้นสาकु ได้ทำการทดลองดังนี้

1. การแยกเชื้อยีสต์จากเยื่อในลำต้นสาकुเพื่อหาเชื้อยีสต์ที่มีคุณสมบัติย่อยแป้งได้ โดยมีวิธีการศึกษาดังนี้

1.1 นำเยื่อในลำต้นสาकुมาทำการเจือจางตามลำดับส่วน ให้ได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม

1.2 นำเยื่อในลำต้นสาकुจากข้อ 1.1 มา pour plate โดยใช้อาหาร starch agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 วัน

1.3 คัดเลือกยีสต์โคโลนีเดี่ยว ๆ ซึ่งเจริญบนอาหาร starch agar เชื้อยีสต์ลงบนอาหาร starch agar งานใหม่ซึ่งแบ่งเป็น 8 ส่วน ทำการ streak เชื้อยีสต์โดยใช้ 1 ส่วนสำหรับโคโลนีของยีสต์แบบหนึ่งๆ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง

1.4 นำเชื้อยีสต์ที่แยกได้มาทดสอบความสามารถในการย่อยแป้ง เปรียบเทียบกับ *Endomycopsis fibuligera* โดยทำวิธี point inoculation นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง

1.5 นำงานเพาะเชื้อในข้อ 1.4 มาราคด้วยสารละลายไอโอดีนสังเกตบริเวณใส (clear zone) ที่เกิดขึ้น เปรียบเทียบกับ *Endomycopsis fibuligera* ถ้าย่อยแป้งได้ดีเท่าๆ กันหรือดีกว่าให้เก็บเชื้อยีสต์ดังกล่าวไว้สำหรับหมักเยื่อในลำต้นสาकु

2. การทดลองหมักเยื่อในลำต้นสาकुสดโดยใช้เชื้อยีสต์ชนิดต่าง ๆ

- เชื้อคัดแยกจากเยื่อในลำต้นสาकुหมายเลข 1
- เชื้อคัดแยกจากเยื่อในลำต้นสาकुหมายเลข 2

- เชื้อ *Endomycopsis fibuligera*
- เชื้อ *Schwanniomyces alluvius* TISTR 5164

โดยใช้เชื้อในลำต้นสาकुสด 15 ถาด ๆ ละ 500 กรัม แต่ละถาดเติมยูเรีย 2.5% (โดยใช้ยูเรียละลายน้ำ และปรับ pH ให้เท่ากับ 4.5) มีจำนวน 5 ทริตเมนต์ ๆ ละ 3 ซ้ำ ดังนี้

- 1) Control ไม่ใส่เชื้อ
- 2) ใส่เชื้อที่คัดแยกจากเชื้อในลำต้นสาकुหมายเลข 1
- 3) ใส่เชื้อที่คัดแยกจากเชื้อในลำต้นสาकुหมายเลข 2
- 4) ใส่เชื้อ *Endomycopsis fibuligera*
- 5) ใส่เชื้อ *Schwanniomyces alluvius* TISTR 5164

หมักนาน 5 วัน ในถาดอกลูมิเนียม

3. การทดลองหมักเชื้อในลำต้นสาकुโดยใช้เชื้อยีสต์ ทั้ง 4 ชนิด เปรียบเทียบระหว่างการนึ่งและไม้นึ่ง โดยใช้เชื้อในลำต้นสาकुนึ่งและไม้นึ่ง 20 ถาด ๆ ละ 500 กรัม แต่ละถาดเติมยูเรีย 2.5 % การศึกษาแบ่งออกเป็น 10 ทริตเมนต์ ๆ ละ 2 ซ้ำ ดังนี้

- 1) เชื้อในลำต้นสาकुนึ่ง ไม่ใส่เชื้อ
- 2) เชื้อในลำต้นสาकुนึ่ง ใส่เชื้อที่คัดแยกจากเชื้อในลำต้นสาकुหมายเลข 1
- 3) เชื้อในลำต้นสาकुนึ่ง ใส่เชื้อที่คัดแยกจากเชื้อในลำต้นสาकुหมายเลข 2
- 4) เชื้อในลำต้นสาकुนึ่งใส่เชื้อ *Endomycopsis fibuligera*
- 5) เชื้อในลำต้นสาकुนึ่งใส่เชื้อ *Schwanniomyces alluvius* TISTR 5164
- 6) เชื้อในลำต้นสาकुสดไม่ใส่เชื้อ
- 7) เชื้อในลำต้นสาकुสด ใส่เชื้อที่คัดแยกจากเชื้อในลำต้นสาकुหมายเลข 1
- 8) เชื้อในลำต้นสาकुสด ใส่เชื้อที่คัดแยกจากเชื้อในลำต้นสาकुหมายเลข 2
- 9) เชื้อในลำต้นสาकुสด ใส่เชื้อ *Endomycopsis fibuligera*
- 10) เชื้อในลำต้นสาकुสด ใส่เชื้อ *Schwanniomyces alluvius* TISTR 5164

หมักนาน 5 วัน ในถาดอกลูมิเนียม โดยการกลับพลิกเชื้อ

4. การทดลองหมักเชื้อในลำต้นสาकुโดยใช้เชื้อยีสต์ทั้ง 4 ชนิด เปรียบเทียบระหว่างมีการกลับพลิกเชื้อและไม่มีการกลับพลิกเชื้อ (การกลับพลิกเชื้อหมายถึงการนวดผสมให้เข้ากันและแผ่แบนราบไว้ในถาดอีกครั้ง) โดยใช้เชื้อในลำต้นสาकुนึ่ง 20 ถาด แต่ละถาดเติมยูเรีย 2.5% การศึกษาแบ่งออกเป็น 10 ทริตเมนต์ ๆ ละ 2 ซ้ำ ดังนี้

- 1) ไม่ใส่เชื้อ มีการกลับพลิกเชื้อ
- 2) ใส่เชื้อที่คัดแยกจากเชื้อในลำต้นสาकुหมายเลข 1 มีการกลับพลิกเชื้อ
- 3) ใส่เชื้อที่คัดแยกจากเชื้อในลำต้นสาकुหมายเลข 2 มีการกลับพลิกเชื้อ
- 4) ใส่เชื้อ *Endomycopsis fibuligera* มีการกลับพลิกเชื้อ
- 5) ใส่เชื้อ *Schwanniomyces alluvius* TISTR 5164 มีการกลับพลิกเชื้อ
- 6) ไม่ใส่เชื้อ ไม่มีการกลับพลิกเชื้อ
- 7) ใส่เชื้อที่คัดแยกจากเชื้อในลำต้นสาकुหมายเลข 1 ไม่มีการกลับพลิกเชื้อ
- 8) ใส่เชื้อที่คัดแยกจากเชื้อในลำต้นสาकुหมายเลข 2 ไม่มีการกลับพลิกเชื้อ
- 9) ใส่เชื้อ *Endomycopsis fibuligera* ไม่มีการกลับพลิกเชื้อ
- 10) ใส่เชื้อ *Schwanniomyces alluvius* TISTR 5164 ไม่มีการกลับพลิกเชื้อ

หมักนาน 5 วัน ในถาดคลุมนิยวม

5. การทดลองหมักเชื้อในลำต้นสาकु โดยใช้เชื้อยีสต์ทั้ง 4 ชนิด เปรียบเทียบระหว่างใส่ยูเรีย 0.5% และไม่ใส่ยูเรีย มีการกลับพลิกเชื้อ โดยใช้สาकुหนึ่ง 20 ถาด ถาดละ 500 กรัม การศึกษาแบ่งออกเป็น 10 ทริตเมนต์ ๆ ละ 2 ซ้ำ ดังนี้

- 1) ไม่ใส่เชื้อ - ไม่ใส่ยูเรีย
- 2) ใส่เชื้อที่คัดแยกจากเชื้อในลำต้นสาकुหมายเลข 1 ไม่ใส่ยูเรีย
- 3) ใส่เชื้อที่คัดแยกจากเชื้อในลำต้นสาकुหมายเลข 2 ไม่ใส่ยูเรีย
- 4) ใส่เชื้อ *Endomycopsis fibuligera* ไม่ใส่ยูเรีย
- 5) ใส่เชื้อ *Schwanniomyces alluvius* TISTR 5164 ไม่ใส่ยูเรีย
- 6) ไม่ใส่เชื้อ ใส่ยูเรีย
- 7) ใส่เชื้อที่คัดแยกจากเชื้อในลำต้นสาकुหมายเลข 1 ใส่ยูเรีย
- 8) ใส่เชื้อที่คัดแยกจากเชื้อในลำต้นสาकुหมายเลข 2 ใส่ยูเรีย
- 9) ใส่เชื้อ *Endomycopsis fibuligera* ใส่ยูเรีย
- 10) ใส่เชื้อ *Schwanniomyces alluvius* TISTR 5164 ใส่ยูเรีย

6. การทดลองหมักเชื้อในลำต้นสาकुโดยใส่เชื้อ *Endomycopsis fibuligera* และเชื้อ *Schwanniomyces alluvius* TISTR 5164 ในระดับต่างๆ และมีการกลับพลิกเชื้อ โดยใช้สาकुหนึ่ง 22 ถาด ๆ ละ 500 กรัม แต่ละถาดใส่ยูเรีย 0.5 % แบ่งสาकुหนึ่งทั้งหมดออกเป็น 11 ทริตเมนต์ ๆ ละ 2 ซ้ำ ดังนี้

- 1) Control ไม่ใส่เชื้อ
- 2) ใส่เชื้อ *Endomycopsis fibuligera* 5%
- 3) ใส่เชื้อ *Endomycopsis fibuligera* 10%
- 4) ใส่เชื้อ *Endomycopsis fibuligera* 15%
- 5) ใส่เชื้อ *Endomycopsis fibuligera* 20%
- 6) ใส่เชื้อ *Endomycopsis fibuligera* 25%
- 7) ใส่เชื้อ *Schwanniomyces alluvius* 5%
- 8) ใส่เชื้อ *Schwanniomyces alluvius* 10%
- 9) ใส่เชื้อ *Schwanniomyces alluvius* 15%
- 10) ใส่เชื้อ *Schwanniomyces alluvius* 20%
- 11) ใส่เชื้อ *Schwanniomyces alluvius* 25%

หมักนาน 5 วัน ในภาดอลูมิเนียม โดยมีการกลับพลิกเชื้อ

การทดลองที่ 2

การทดลองใช้เชื้อในลำต้นสาขุหมักเป็นอาหารนกกกระทา

1. การใช้เชื้อในลำต้นสาขุหมักในสูตรอาหารนกกกระทาระยะเจริญเติบโต

การใช้เชื้อในลำต้นสาขุหมักที่ได้ผลจากการทดลองที่ 1 โดยการหมักด้วยเชื้อ *Schwanniomyces alluives* TISTR 5164 25 % ใข้ยูเรีย 0.5 % โดยการกลับพลิกเชื้อทุกวันในสูตรอาหารนกกกระทาระยะเจริญเติบโต โดยใช้เชื้อในลำต้นสาขุหมัก แทนที่วัตถุดิบแหล่งโปรตีนในสูตรอาหาร นกกกระทา ช่วงอายุ 0-6 สัปดาห์ 5 ระดับ คือ 0, 10, 15, 20 และ 25 % การศึกษาได้ใช้นกกระทาเพศ อายุ 1 วัน จำนวน 450 ตัว นกทั้งหมดถูกแบ่งออกโดยสุ่มเป็น 5 กลุ่ม ๆ ละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 30 ตัว การบันทึกข้อมูลด้านน้ำหนักตัว และปริมาณอาหารที่กินบันทึกทุก 2 สัปดาห์ ส่วนการตายบันทึกทุกครั้งที่มีนกตายเกิดขึ้น

2. การใช้เชื้อในลำต้นสาขุหมักในสูตรอาหารนกกกระทาระยะไข่

ใช้เชื้อในลำต้นสาขุหมักที่ได้ผลจากการทดลองที่ 1 นำไปแทนที่วัตถุดิบอาหารแหล่งโปรตีนในสูตรอาหาร นกกกระทาระยะไข่ 5 ระดับ คือ 0, 10, 20, 25 และ 30 % โดยใช้นกกระทาเพศเมีย อายุ 6 สัปดาห์ จำนวน 225 ตัว จากนั้นนกถูกแบ่งออกโดยสุ่มเป็น 5 กลุ่ม ๆ ละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 15 ตัว การบันทึกข้อมูลด้านการไข่บันทึกเป็นรายวันทุกวัน ส่วนข้อมูลด้านปริมาณอาหารที่กิน และน้ำหนักตัวบันทึกเมื่อสิ้นสุดในแต่ละช่วงการทดลอง ซึ่งแต่ละช่วงการทดลองมี 14 วัน การศึกษานี้ใช้เวลา

ทดลองทั้งสิ้น 4 ช่วงการทดลอง รวม 56 วัน สำหรับการศึกษาคูณภาพไข่ น้าหนักไข่ ในช่วงการทดลองที่ 5 ได้สุ่มไข่จากนกกระทาทุก ๆ ซ้า ๆ ละ 10 ฟอง วัดความเข้มของสีไข่แดง (Yolk color) โดยใช้ Roche yolk color fan

ส่วนผสมและคุณค่าทางโภชนาการของอาหารทดลองของนกกระทาในระยะเจริญเติบโต และระยะไข่ แสดงไว้ในตารางที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

3. แผนการทดลอง

ทั้งสองการทดลองคือการศึกษาวิธีการหมักเพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีนในลำต้นสาकु และการนำไปใช้เป็นอาหารนกกระทาใช้แผนการทดลอง Completely randomized design

4. สถานที่ทำการทดลอง

โรงเรียนสัตวป้าก แผนกวิชาเทคโนโลยีการเกษตร ภาควิชาเทคโนโลยีและการอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา แผนกวิชาชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

5. ระยะเวลาทดลอง

ใช้เวลาทั้งสิ้น 1 ปี

6. การบันทึกข้อมูล

6.1 การทดลองหมักเชื้อในลำต้นสาकु

- ปริมาณโปรตีน
- ปริมาณความชื้น

6.2 การทดลองเลี้ยงนกกระทาระยะเจริญเติบโต

- น้ำหนักตัวทุก ๆ 2 สัปดาห์
- ปริมาณอาหารที่กิน
- จำนวนนกตาย

แล้วคำนวณหา

- น้ำหนักตัวเฉลี่ย
- อัตราการเจริญเติบโต
- ปริมาณอาหารที่กิน
- อัตราแลกเนื้อ
- อัตราการตาย

6.3 การทดลองเลี้ยงนกกระทาระยะไข่

- ปริมาณอาหารที่กินทุก ๆ 14 วัน
- สถิติการไข่เป็นรายเช้าทุกวัน
- น้ำหนักไข่ของนกกระทาแต่ละเช้าทุกวัน
- การตายของนกกระทา แต่ละเช้าทุกช่วงการทดลอง
- น้ำหนักนกกระทาเมื่อเริ่มทดลองและสิ้นสุดการทดลอง
- สีไข่แดง

แล้วคำนวณหา

- อัตราการไข่ (Hen-day egg production,%)
- น้ำหนักไข่เฉลี่ย (Egg weight, g.)
- ปริมาณอาหารที่กินต่อการผลิตไข่หนึ่งกิโลกรัม
(Feed per kilogram egg, kg.)
- ปริมาณอาหารที่กินต่อการผลิตไข่หนึ่งโหล
(Feed per dozen egg, kg.)
- อัตราการตาย (Mortality rate, %)
- การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว (Body weight change, g.)
- สีไข่แดง(Yolk color)

7. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ข้อมูลทั้งหมดนำมาวิเคราะห์โดย Analysis of variance แล้วลำดับความแตกต่างระหว่างพวก โดยวิธี Duncan's new multiple range test ซึ่งบังคับโดยจรรยา(2526)

ตารางที่ 1 ส่วนผสมและคุณค่าทางโภชนาการของอาหารนกระทำในช่วงอายุ 0-6 สัปดาห์

ระดับของเชื้อในสาหร่ายหมักในอาหาร (%)	0	10	15	20	25
ชนิดของวัตถุดิบ					
เชื้อในสาหร่ายหมัก ^{1/}	0	10	15	20	25
ข้าวโพด	41.6	32.2	27.54	22.85	18.15
กากถั่วเหลือง	30.4	29.8	29.46	29.15	28.85
วัตถุดิบคงที่ ^{2/}	28	28	28	28	28
รวม	100	100	100	100	100
คุณค่าทางโภชนาการโดยการคำนวณ (% air dry)					
โปรตีน (%)	24.00	24.01	23.99	23.99	24.00
ME (kcal/g) ^{3/}	2796	2466	2301	2136	1971
Ca (%)	1.47	1.47	1.47	1.46	1.40
P (%)	0.73	0.72	0.72	0.71	0.71
ไลซีน (%)	1.43	1.39	1.37	1.35	1.33

^{1/} ใช้เชื้อในสาหร่ายสด หมักด้วยเชื้อ *Schwanniomyces alluvius* TISTR 5164 โดยใช้หัวเชื้อเริ่มต้น 25 % ซึ่งจะมีปริมาณ โปรตีน 11.3 %

^{2/} ประกอบด้วยรำละเอียด 15 % ปลาป่น 10 % เปลือกหอย 1 % ไคคลเซียมฟอสเฟต 1 % เกลือ 0.5 % และ premix 0.5 %

^{3/} คำนวณ โดยไม่คิดค่า ME จากเชื้อในสาหร่ายหมัก

ตารางที่ 2 ส่วนผสมและคุณค่าทางโภชนาการของอาหารนกกระทาในช่วงไข่

ระดับของเยื่อในสาหร่ายหมักในอาหาร (%) ^{1/}	0	10	20	25	30
ชนิดของวัตถุดิบ					
เยื่อในสาหร่ายหมัก ^{1/}	0	10	20	25	30
ข้าวโพด	43	33.7	24.35	19.65	14.96
กากถั่วเหลือง	22.5	21.8	21.15	20.85	20.54
วัตถุดิบคงที่ ^{2/}	34.5	34.5	34.5	34.5	34.5
รวม	100	100	100	100	100
คุณค่าทางโภชนาการโดยการคำนวณ (% air dry)					
โปรตีน (%)	20.04	20.01	19.99	20.00	20.00
ME (kcal/g) ^{3/}	2967	2638	2309	2143	1978
Ca (%)	3.46	3.46	3.46	3.46	3.45
P (%)	1.24	1.22	1.21	1.21	1.21
ไลซีน (%)	1.19	1.15	1.11	1.09	1.07

^{1/}, ^{2/} และ ^{3/} เช่นเดียวกับตารางที่ 1