ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *Aspergillus oryzae* เพื่อเป็นอาหารในไก่ไข่

นางสาวสุภัตรา โอกระโทก

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ปีการศึกษา 2556

EFFECTS OF USING *Aspergillus oryzae* FERMENTED CASSAVA PULP AS FEED IN LAYING HENS

Supattra Okrathok

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the

Degree Master of Science in Animal Production Technology

Suranaree University of Technology

Academic Year 2013

ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *Aspergillus oryzae* เพื่อเป็นอาหารในไก่ไข่

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(รศ. ดร.พงษ์ชาญ ณ ลำปาง)
ประธานกรรมการ

(ผศ. ดร.สุทิศา เข็มผะกา)
กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์)

(อ. ดร.วิทธวัช โมฬี)
กรรมการ

(ผศ. น.สพ. ดร.บัญชร ลิขิตเดชาโรจน์)
กรรมการ

(ผศ. ดร.อมรรัตน์ โมฬี)
กรรมการ

(ศ. ดร.ชูกิจ ลิมปิจำนงค์)
รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ

(ผศ. ดร.สุเวทย์ นิงสานนท์)
คณบดีสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สุภัตรา โอกระโทก : ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *Aspergillus oryzae* เพื่อเป็นอาหารในไก่ไข่ (EFFECTS OF USING *Aspergillus oryzae* FERMENTED CASSAVA PULP AS FEED IN LAYING HENS) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุทิศา เข็มผะกา, 79 หน้า.

กากมันสำปะหลังสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสำหรับสัตว์ได้ แต่การใช้ยังมีข้อจำกัดในเรื่องของปริมาณโปรตีนต่ำ และเยื่อใยสูง ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลังโดยกระบวนการหมักด้วยเชื้อรา *Aspergillus oryzae* เพื่อปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะในอาหารไก่ไข่ ต่อการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ สมรรถนะการผลิต คุณภาพไข่ ปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดง การเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร กรดไขมันระเหยได้ และค่าทางชีวเคมีของโลหิต การศึกษาครั้งนี้แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ใช้ไก่ไข่พันธุ์อีซ่า บราวน์ จำนวน 48 ตัว เลี้ยงในกรงขังเดี่ยวเป็นระยะเวลา 4 วัน เพื่อปรับตัว จากนั้นทำการแบ่งไก่ออกเป็น 6 กลุ่ม ๆ ละ 8 ซ้ำ ๆ ละ 1 ตัว ให้น้ำและอาหารแบบเต็มที่เป็นเวลา 10 วัน อาหารทดลองมี 6 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุม และกลุ่มทดแทนด้วยกากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 8, 16, 24, 32 และ 40% ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่ากากมันสำปะหลังหมักสามารถใช้ในสูตรอาหารไก่ไข่ได้ถึงระดับ 32% โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ ($p>0.05$) แต่เมื่อใช้กากมันสำปะหลังหมักในระดับที่สูงขึ้น (40%) ส่งผลให้การย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะลดลง ($p<0.05$) การทดลองที่ 2 ใช้ไก่ไข่พันธุ์อีซ่า บราวน์ จำนวน 192 ตัว ทำการแบ่งไก่ไข่ออกเป็น 4 กลุ่ม เพื่อรับอาหารทดลอง (สูตรควบคุม 1 กลุ่ม และสูตรทดแทนด้วยกากมันสำปะหลังหมัก 3 กลุ่ม : 16, 24 และ 32%) เลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่าการใช้กากมันสำปะหลังหมักทดแทนทุกระดับ ไม่มีผลกระทบต่อปริมาณอาหารที่กิน และน้ำหนักไข่ ($p>0.05$) ผลผลิตไข่ลดลงเมื่อใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 32% ($p<0.05$) นอกจากนี้ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร มวลไข่ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของไก่ไข่ลดลงแบบเส้นตรงตามระดับของการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่เพิ่มขึ้น ($p<0.05$) อย่างไรก็ตามการใช้กากมันสำปะหลังหมักไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพไข่ ($p>0.05$) ยกเว้นสีของไข่แดงมีการลดลงตามระดับของกากมันสำปะหลังหมักที่เพิ่มขึ้นในสูตรอาหาร ($p<0.05$) กากมันสำปะหลังหมักสามารถลดคอเลสเตอรอลในไข่แดงได้ประมาณ 5% แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ถึงแม้ว่ากากมันสำปะหลังหมักไม่มีผลในการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ส่วนท้าย แต่พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณการผลิตกรดอะซิติก และกรดบิวทีริกเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p<0.05$) สำหรับค่าทางชีวเคมีของโลหิต พบว่ากากมันสำปะหลังหมักไม่มีผลกระทบต่อกิจกรรมของเอนไซม์ AST และ ALT ปริมาณยูเรียไนโตรเจน คอเลสเตอรอล และภูมิคุ้มกันรวมของไก่ไข่ ($p>0.05$) จากการ

ทดลองสรุปได้ว่าสามารถใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ได้ถึงระดับ 24% ในอาหารไก่ไข่ โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ สมรรถนะการผลิตและคุณภาพไข่

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ ลายมือชื่อนักศึกษา_____

ปีการศึกษา 2556 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม_____

SUPATTRA OKRATHOK : EFFECTS OF USING *Aspergillus oryzae* FERMENTED CASSAVA PULP AS FEED IN LAYING HENS. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. SUTISA KHEMPAKA, Ph.D., 79 PP.

FERMENTED CASSAVA PULP/DIGESTIBILITY/EGG PRODUCTION/EGG QUALITY/LAYING HENS

Cassava pulp can be used as a feed ingredient for animals, however, its use in diets is limited because the pulp contains low protein and high fiber contents. Therefore, this study was conducted to investigate the effects of using cassava pulp fermented with *A. oryzae* as feed substitution to improve nutritive values in laying hen diets on nutrient digestibility and retention, productive performance, egg quality, egg yolk cholesterol, microbial population changes, volatile fatty acids and biochemical blood profile. This study was divided into 2 experiments. In experiment 1, a total of 48 laying hens (Isa brown) were placed in individual cages. After a 4 days' adaptation period, birds were randomly distributed to 6 groups with 8 replicates of 1 bird. Feed and water were provided *ad libitum* for 10 days. Six dietary treatments were given as follows : control and fermented cassava pulp (FCP) substituted diets at 8, 16, 24, 32, and 40%, respectively. The results showed that FCP can be used in laying hen diets up to 32% without showing negative effects on nutrient digestibility and retention ($p>0.05$). However, when FCP was used at a higher level (40%), it resulted in decreased nutrient digestibility and retention ($p<0.05$). In experiment 2, a total of 192 laying hens (Isa brown) were randomly distributed to 4 dietary treatments (control and three fermented cassava pulp substituted diets at 16, 24 and 32%)

through 8 weeks. The results showed that all FCP substitution levels had no effects on feed intake and egg weight ($p>0.05$). Egg production was significantly decreased when FCP was used at levels of 32%. Feed conversion ratio, egg mass, and protein efficiency ratio decreased linearly ($p<0.05$) as FCP was increased in the diets. However, FCP had no detrimental effect on egg quality, except for the egg yolk color being decreased with increasing the pulp in diets ($p<0.05$). The use of FCP decreased egg yolk cholesterol by approximately 5% when compared to the control diet, but no significant differences were found ($p>0.05$). Although FCP showed no effect on microbial population changes in the hind gut ($p>0.05$), it increased acetic acid and butyric acid production ($p<0.05$). Regarding the biochemical blood profile, it was found that FCP had no effect on the activities of AST and ALT enzymes, blood urea nitrogen, cholesterol and total immunoglobulin in laying hens ($p>0.05$). In conclusion, cassava pulp fermented with *A. oryzae* can be used in laying hen diets up to 24% without showing negative effects on nutrient digestibility and retention, productive performance and egg quality.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

School of Animal Production Technology Student's Signature S. Okrathok

Academic Year 2013 Advisor' Signature Sutisa Khempaka

Co-Advisor' Signature W. Molee

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุทิศา เข็มผะกา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และอาจารย์ ดร.วิทธวัช โมพี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำ สนับสนุนงานด้านการทดลองในตลอดระยะเวลาของการศึกษา และช่วยเหลือ ตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ อีกทั้งช่วยทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบรูณ์ นอกจากนี้ขอขอบพระคุณอาจารย์ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ ตลอดจนอาจารย์ผู้สอนทุกท่าน ที่อบรมสั่งสอนจนสำเร็จการศึกษา และให้ความรู้ทางด้านวิชาการที่เป็นประโยชน์ต่อการศึกษางานวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่งานสัตว์ปีก และเจ้าหน้าที่งานจักรกลเกษตร ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ทุกท่านที่ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือในการดูแลไก่ไข่ และการออกแบบจัดทำเครื่องหมักกากมันสำปะหลัง ขอบคุณศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี รวมทั้ง เจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ เครื่องมือ อุปกรณ์ และสิ่งอำนวยความสะดวกต่าง ๆ สำหรับการดำเนินงานวิจัย

ขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ที่สละเวลาให้ความช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกในระหว่างการทำวิทยานิพนธ์ให้ลุล่วงไปด้วยดี

และสุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบิดา มารดา และญาติพี่น้องทุกท่านที่คอยเป็นกำลังใจสนับสนุน และช่วยเหลือจนประสบความสำเร็จในการศึกษา

สุภัตรา โอกระโทก

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย) ..... ก

บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ) ..... ค

กิตติกรรมประกาศ ..... จ

สารบัญ ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญภาพ ..... ญ

บทที่

1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ในการวิจัย 2

1.3 สมมุติฐานของงานวิจัย 3

1.4 ขอบเขตของการวิจัย 3

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 4

2.1 ผลผลิตมันสำปะหลังในประเทศไทย 4

2.2 กระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง 7

2.3 กากมันสำปะหลัง (cassava pulp) 8

2.4 การใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบอาหารสำหรับสัตว์ปีก 10

2.5 การปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของวัตถุดิบอาหารสัตว์โดยวิธีการหมัก 12

2.6 ปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการหมัก 13

2.7 ผลของการหมักวัตถุดิบอาหารสัตว์ 18

2.8 ผลของการใช้มันสำปะหลังและกากมันสำปะหลังหมักในอาหารสัตว์ปีก 19

3 วิธีดำเนินการวิจัย 24

3.1 การทดลองที่ 1 : การศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ในอาหารไก่ไข่ ต่อการย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ 24

3.1.1 การหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อรา *A. oryzae* 24

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3. การเตรียมเครื่องหมักกากมันสำปะหลัง 25

4. การเตรียมกากมันสำปะหลังหมัก 25

3.1.2 สัตว์ทดลอง 29

3.1.3 อาหารทดลอง 29

3.1.4 การก็บข้อมูลเพื่อศึกษาการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ 29

3.1.5 การวิเคราะห์ทางเคมี 29

3.1.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ 30

3.2 การทดลองที่ 2 : การศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ในอาหารไก่ไข่ ต่อสมรรถนะการผลิต คุณภาพไข่ ปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดง ค่าทางชีวเคมีของโลหิต การเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร และกรดไขมันระเหยได้ 30

3.2.1 การเตรียมกากมันสำปะหลังหมัก 30

3.2.1 สัตว์ทดลอง 30

3.2.3 อาหารทดลอง 31

3.2.4 สิ่งที่ต้องการศึกษา 31

3.2.5 วิเคราะห์ทางสถิติ 33

3.3 สถานที่ทำการทดลอง 34

3.4 ระยะเวลาทำการทดลอง 34

4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง 35

4.1 การทดลองที่ 1 : ผลการศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ในอาหารไก่ไข่ ต่อการย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ 38

4.2 การทดลองที่ 2 : ผลการศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ต่อสมรรถนะการผลิต และคุณภาพไข่ 40

4.2.1 ผลของกากมันสำปะหลังหมักในอาหารต่อสมรรถนะการผลิตของไก่ไข่ 40

4.2.2 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ต่อคุณภาพไข่ 43

4.2.3 ของการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ในอาหารไก่ไข่ ต่อปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่ 49

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2.4 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ต่อจำนวนประชากรจุลินทรีย์และปริมาณกรดไขมันระเหยได้ใน digesta บริเวณลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม 50
4.2.5 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ต่อค่าทางชีวเคมีของโลหิต 52
4.2.6 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ ต่อสมรรถนะการผลิตและผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ 55
5 สรุปและข้อเสนอแนะ 57
5.1 สรุป 57
5.2 ข้อเสนอแนะ 57
รายการอ้างอิง 59
ภาคผนวก วิธีการดำเนินงานในห้องปฏิบัติการ 68
ประวัติผู้เขียน 79

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 พื้นที่ปลูกและปริมาณผลผลิตมันสำปะหลังในประเทศไทย 5

2.2 ปริมาณพื้นที่เก็บเกี่ยวและผลผลิตมันสำปะหลังในแต่ละจังหวัด 6

2.3 ปริมาณส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังของประเทศไทยในแต่ละปี 6

2.4 องค์ประกอบทางโภชนะของกากมันสำปะหลัง 10

2.5 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบอาหารสำหรับสัตว์ปีก 12

2.6 องค์ประกอบทางโภชนะของวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ 21

2.7 องค์ประกอบทางโภชนะของผลิตภัณฑ์จากมันสำปะหลังที่หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ 22

2.8 ผลการใช้มันสำปะหลังหมักและกากมันสำปะหลังหมักในอาหารสัตว์ปีก 23

3.1 องค์ประกอบทางโภชนะของกากมันสำปะหลังหมัก 28

3.2 ส่วนประกอบของสูตรอาหารไก่ไข่ที่ใช้ในการทดลอง 32

4.1 องค์ประกอบทางโภชนะของข้าวโพด กากมันสำปะหลัง และกากมันสำปะหลังหมัก 37

4.2 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ต่อการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ 40

4.3 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ต่อสมรรถนะการผลิต 45

4.4 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ต่อมวลไข่และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของไก่ไข่ 47

4.5 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ต่อคุณภาพไข่ 48

4.6 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ต่อปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่ 50

4.7 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ต่อจำนวนประชากรจุลินทรีย์และปริมาณไขมันระเหยได้ใน digesta บริเวณลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม 52

4.8 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ต่อค่าทางชีวเคมีของโลหิต 55

4.9 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ต่อผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ 56

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 เนื้อที่เพาะปลูกมนสำปะหลังของประเทศไทย 5
2.2 โครงสร้างของลินามาริน โลทอสตราลิน และกระบวนการไฮโดรไลซีสลินามาริน 7
2.3 กรรมวิธีการผลิตแป้งมันสำปะหลัง 9
2.4 โครงสร้างของอะไมโลส และอะไมโลเพคติน 11
2.5 การเพิ่มโปรตีนโดยจุลินทรีย์ในวัสดุหมัก 14
2.6 ลักษณะโครงสร้างของเชื้อรา *Aspergillus* 17
3.1 ลักษณะของเชื้อรา *A. oryzae* และสารละลายสปอร์เชื้อรา *A. oryzae* 25
3.2 ข้าวสารที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 121°C เวลา 15 นาที และหัวเชื้อรา *A. oryzae* ที่เจริญเติบโตในข้าวสาร 26
3.3 แสดงอุปกรณ์ภายนอกเครื่องหมักกากมันสำปะหลังประกอบด้วยฮีตเตอร์ เทอร์โมมิเตอร์ ชุดควบคุมอุณหภูมิ และฉนวนกันความร้อน 27
3.4 ลักษณะภายในเครื่องหมักกากมันสำปะหลังที่มีใบพัดหรือใบกวน 27
3.5 แสดงกากมันสำปะหลังที่ผ่านการนึ่งด้วยเครื่องหมักที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เครื่องหมักกากมันสำปะหลังโดยใช้ระยะเวลาในการหมัก 4 วัน 27

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

อุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่ไข่ของประเทศไทยมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง การเลี้ยงที่จะให้ผลตอบแทนที่ดีต้องอาศัยหลายปัจจัยรวมกันไม่ว่าจะเป็นการจัดการด้านอาหาร สภาพแวดล้อม การเลี้ยงดู และการป้องกันโรค อาหารเป็นปัจจัยสำคัญในการเลี้ยงไก่ไข่ ซึ่งเป็นต้นทุนในการผลิตประมาณ 70 - 80% ของต้นทุนทั้งหมด ที่ผ่านมาเกษตรกรผู้เลี้ยงไก่ไข่มักประสบปัญหาวัตถุดิบอาหารสัตว์ขาดแคลน และมีราคาแพง ดังนั้นการศึกษาวิจัยเพื่อหาวัตถุดิบทดแทนที่เป็นเศษเหลือหรือผลพลอยได้ทั้งจากภาคการเกษตรหรือโรงงานอุตสาหกรรมที่มีอยู่ในท้องถิ่น เพื่อเป็นวัตถุดิบอาหารสำหรับไก่ไข่น่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยแก้ไขปัญหาดังกล่าวได้

มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทยซึ่งประเทศไทยสามารถผลิต และส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังได้เป็นอันดับต้น ๆ ของโลก โดยผลิตได้ประมาณ 21 - 30 ล้านตันต่อปี ปริมาณการผลิตมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ในแต่ละปีมันสำปะหลังประมาณ 45% จะถูกนำไปใช้ในการผลิตแป้งมันสำปะหลัง จากกระบวนการผลิตจะมีเศษเหลือหรือผลพลอยได้เป็นกากมันสำปะหลังจำนวนมาก ซึ่งกากมันสำปะหลังยังมีโภชนะเหลืออยู่ประกอบด้วย แป้ง 53.55% เถ้า 2.83% โปรตีน 1.98% เยื่อใย 13.59% และไขมัน 0.13% (Khempaka, Molee and Guillaume, 2009) จากการรวบรวมเอกสารพบว่ากากมันสำปะหลังสามารถใช้เป็นวัตถุดิบในสูตรอาหารไก่เนื้อได้ 8 - 10% (ยุวเรศ เรืองพานิช, อรประพันธ์ ส่งเสริม, สุกัญญา รัตนทับทิมทอง, ณัฐชนก อมรเทวภัท, สุชาติ สงวนพันธุ์, อรทัย ไตรวุฒานนท์ และ อรรถวุฒิ พลายบุญ, 2550; Khempaka et al., 2009) และในสูตรอาหารไก่ไข่ได้ 15% (ยุวเรศ และคณะ, 2550; Chauynarong, Iji and Kanto, 2010) โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการผลิต และคุณภาพไข่ อย่างไรก็ตามการใช้กากมันสำปะหลังในระดับที่สูงขึ้นจะมีผลกระทบต่อการย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ รวมถึงมีผลทำให้สีไข่แดงซีดลง นอกจากนี้การใช้กากมันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์ยังมีข้อจำกัดในเรื่องของปริมาณโปรตีนต่ำและเยื่อใยสูง ดังนั้นหากมีการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของกากมันสำปะหลังโดยวิธีการหมัก (fermentation) น่าจะเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการเพิ่มการใช้ประโยชน์จากกากมันสำปะหลังได้มากขึ้น

กระบวนการหมักวัตถุดิบอาหารสัตว์คุณภาพต่ำโดยอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์เพื่อปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะมีปัจจัยสำคัญ ได้แก่ ชนิดของจุลินทรีย์ สารอาหารสำหรับจุลินทรีย์ และสภาวะการหมัก เชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถนำมาใช้หมักวัตถุดิบอาหารสัตว์ และพบว่าสามารถ

เพิ่มคุณค่าทางโภชนะโดยเฉพาะเพิ่มโปรตีนให้สูงขึ้นได้ เช่น *Saccharomyces cerevisiae, Candida utilis, Aspergillus niger* และ *Aspergillus oryzae* (Obo, Akindahunsi and Oshodi, 2002; Oboh and Akindahunsi, 2005) โดย Thongkratok, Khempaka and Molee (2010) รายงานว่าการหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 0.75% หมักเป็นเวลา 4 วันสามารถเพิ่มโปรตีนและอะมิโนไนโตรเจนในกากมันสำปะหลังหมักได้สูงสุด จากการรวบรวมเอกสารงานวิจัยการใช้วัตถุดิบที่ผ่านกระบวนการหมัก เช่น กากถั่วเหลืองหมัก กากผลไม้หมัก และมันสำปะหลังหมัก พบว่าสามารถใช้ในสูตรอาหารได้ในระดับที่มากกว่าปกติ โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการย่อยได้ และสมรรถนะการเจริญเติบโตของทั้งไก่เนื้อ และเป็ด (ทรงศักดิ์ วัฒนชัยเสรีกุล, 2543; อุษณีย์ภรณ์ สร้อยเพ็ชร์, เทอดศักดิ์ คำเหม็ง, ฉลอง วชิราภากร และ วิชัย ลีลาวัชรมาศ, 2550; Feng, Liu, Xu, Liu and Lu, 2007a; Feng, Liu, Xu, Wang and Liu, 2007b; David, 2011) นอกจากนี้ ฤทัยรัตน์ โต้งกระโทก (2553) ศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ในอาหารไก่เนื้อ พบว่าสามารถใช้ได้ที่ระดับสูงขึ้นถึง 16% เมื่อเปรียบเทียบกับกากมันสำปะหลังปกติที่ใช้ได้เพียง 8 - 10% โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ สมรรถนะการเจริญเติบโต และคุณภาพซากของไก่เนื้อ ดังนั้นการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่น่าจะเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะสามารถเพิ่มระดับการใช้กากมันสำปะหลังในสูตรอาหารได้สูงขึ้น แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาเกี่ยวกับการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ยังมีข้อมูลค่อนข้างน้อย นอกจากนี้เยื่อใยที่เป็นองค์ประกอบในกากมันสำปะหลังอาจมีบทบาทสำคัญต่อการลดปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดง การเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารส่วนท้าย และการผลิตกรดไขมันระเหยได้

ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในสูตรอาหารสำหรับไก่ไข่ โดยศึกษาผลต่อการย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ สมรรถนะการผลิต คุณภาพไข่ ปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดง การเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารส่วนท้าย กรดไขมันระเหยได้ และค่าทางชีวเคมีของโลหิต

1.2 วัตถุประสงค์ในการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ในอาหารไก่ไข่ต่อการย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ในอาหารไก่ไข่ต่อสมรรถนะการผลิต คุณภาพไข่ ปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดง การเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารส่วนท้าย กรดไขมันระเหยได้ และค่าทางชีวเคมีของโลหิต

1.3 สมมุติฐานของงานวิจัย

1.3.1 การหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อรา *A. oryzae* สามารถปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะโดยเฉพาะในส่วนของโปรตีน และสามารถเพิ่มระดับการใช้ในสูตรอาหารไก่ไข่ได้สูงขึ้น โดยการใช้กากมันสำปะหลังหมักในระดับที่เหมาะสมจะไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการผลิต และคุณภาพไข่

1.3.2 เยื่อใยที่เป็นองค์ประกอบในกากมันสำปะหลังหมักน่าจะมีบทบาทสำคัญในการลดคอเลสเตอรอล เปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ การผลิตกรดไขมันระเหยได้ และกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันในไก่ไข่ได้

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยนี้มุ่งเน้นศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ที่ระดับต่าง ๆ ในสูตรอาหารไก่ไข่ ต่อการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ สมรรถนะการผลิต คุณภาพไข่ ปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดง การเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร การผลิตกรดไขมันระเหยได้ และค่าทางชีวเคมีของโลหิต โดยคาดว่าความรู้ที่ได้จากการศึกษาวิจัยจะสามารถเพิ่มระดับการใช้กากมันสำปะหลังในสูตรอาหารไก่ไข่ได้สูงขึ้น

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ได้วัตถุดิบอาหารสำหรับไก่ไข่ชนิดใหม่ที่มีคุณค่าทางโภชนะ โดยเฉพาะปริมาณโปรตีนสูงขึ้น และสามารถเพิ่มระดับการใช้ในสูตรอาหารได้มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกากมันสำปะหลังปกติ

1.5.2 ทราบถึงระดับที่เหมาะสมในการใช้กากมันสำปะหลังหมักเพื่อเป็นแหล่งวัตถุดิบอาหารสำหรับไก่ไข่

1.5.3 เพิ่มแนวทางการใช้ประโยชน์จากกากมันสำปะหลังซึ่งเป็นเศษเหลือจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังได้ รวมถึงยังช่วยลดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อมในการกำจัดเศษเหลือเหล่านี้ได้อีกทางหนึ่ง

บทที่ 2
ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 ผลผลิตมันสำปะหลังในประเทศไทย

มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทยซึ่งในแต่ละปีมีปริมาณการผลิตจำนวนมาก จากพื้นที่เก็บเกี่ยวผลผลิตมันสำปะหลังทั้งหมดของประเทศประมาณ 7 - 8 ล้านไร่ และสามารถผลิตหัวมันสำปะหลังสดได้ประมาณ 21 - 30 ล้านตันต่อปี มีผลผลิตเฉลี่ย 3.0 - 3.7 ตันต่อไร่ต่อปี ดังแสดงในตารางที่ 2.1 ภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีพื้นที่สำหรับเพาะปลูกมันสำปะหลังมากที่สุดในประเทศไทย (แสดงในภาพที่ 2.1) ในปี 2555 มีเนื้อที่เพาะปลูกมันสำปะหลัง 4,366,997 ไร่ คิดเป็น 55% ของพื้นที่เพาะปลูกทั้งหมด โดยเฉพาะจังหวัดนครราชสีมามีพื้นที่ในการเพาะปลูก และผลผลิตมันสำปะหลังมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับจังหวัดอื่น โดยปี 2556 มีการคาดการณ์ว่าจังหวัดนครราชสีมาจะมีพื้นที่เก็บเกี่ยวผลผลิตมันสำปะหลังประมาณ 1,771,765 ไร่ สามารถผลิตหัวมันสำปะหลังสดได้ประมาณ 6,236,613 ตัน (แสดงในตารางที่ 2.2)

หัวมันสำปะหลังสดจะนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น มันเส้น (cassava chips) มันอัดเม็ด (cassava pellets) แป้งมันสำปะหลัง (cassava flour) และผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ซึ่งผลิตภัณฑ์เหล่านี้จะนำมาใช้ประโยชน์ทั้งภายในประเทศ และส่งออกนอกประเทศในรูปแบบต่าง ๆ (แสดงในตารางที่ 2.3) โดยประเทศไทยนั้นมีการส่งออกผลิตภัณฑ์จากมันสำปะหลังเป็นอันดับหนึ่งของโลก และปริมาณการผลิตยังมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี นอกจากนี้ในแต่ละปีผลผลิตของมันสำปะหลังประมาณ 45% จะถูกนำมาผลิตแป้งมันสำปะหลัง และจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังจะมีเศษเหลือประมาณ 10 - 15% ของหัวมันสำปะหลังสด (Sriroth, Chollakup, Chotineeranat, Piyachomkwan and Oates, 2000) มาจากการล้าง การปอกเปลือก และการสกัดแป้ง ซึ่งประกอบด้วย น้ำทิ้ง เศษดิน และทราย เปลือกมันสำปะหลัง และกากมันสำปะหลัง (cassava pulp) ประมาณ 3 - 6% ของปริมาณเศษเหลือทั้งหมด

มันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบอาหารที่เหมาะสมสำหรับการใช้เลี้ยงสัตว์ชนิดต่าง ๆ ซึ่งคุณค่าทางโภชนะของมันสำปะหลังประกอบด้วย แป้ง 70 - 80% เถ้า 3 - 5% โปรตีน 2.5% เยื่อใย 3 - 3.5% และไขมัน 0.5% โดยมันสำปะหลังส่วนใหญ่มีสารประกอบจำพวกแป้งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ง่าย จึงเหมาะสมที่จะใช้เป็นวัตถุดิบแหล่งพลังงานสำหรับสัตว์กระเพาะเดี่ยว แป้งในมันสำปะหลังมีลักษณะเป็นแป้งอ่อน (soft starch) ทำให้สัตว์สามารถย่อยได้เร็ว เนื่องจากคุณสมบัติของแป้งอ่อนจะดูดซับน้ำไว้ในโมเลกุลได้อย่างรวดเร็วทำให้เอนไซม์อะไมเลส (amylase) ในระบบทางเดินอาหาร

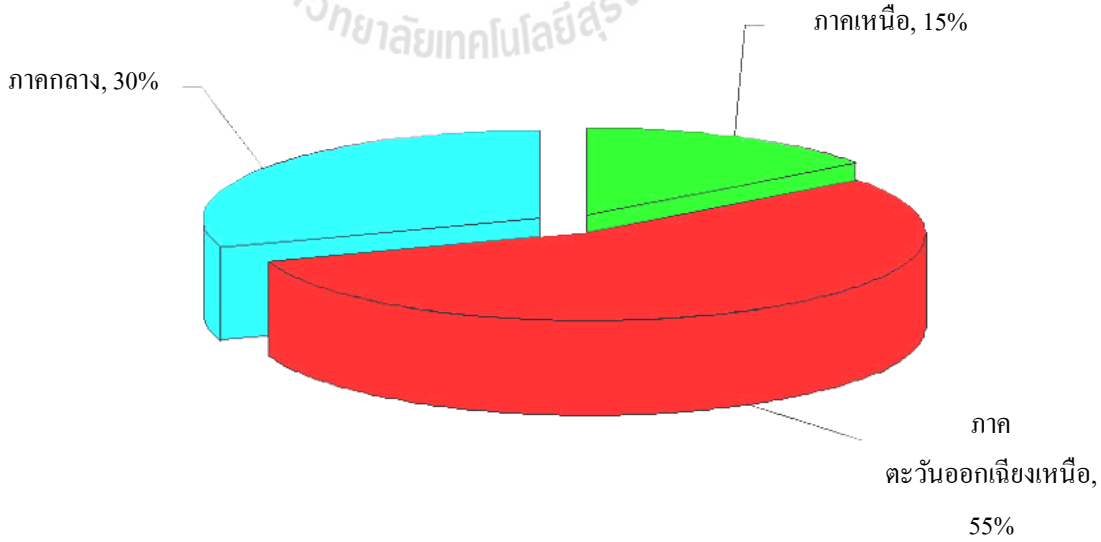
ของสัตว์ย่อยแป้งได้เร็วขึ้นส่งผลดีต่อตัวสัตว์ เพราะสัตว์จะเกิดความเครียดจากการย่อยอาหารน้อยลง นอกจากนี้มันสำปะหลังมีการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อรา เช่น อะฟลาทอกซิน และซีลาลีโนน ในปริมาณที่น้อยหรือไม่มีเลยเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวโพด เนื่องจากมันสำปะหลังไม่เป็นอาหารที่ดีสำหรับเชื้อ *Aspergillus flavus* ทำให้มีโอกาสสร้างอะฟลาทอกซินน้อย (อุทัย คันโธ, 2546; สาโรช ค้าเจริญ, 2547)

ตารางที่ 2.1 พื้นที่ปลูกและปริมาณผลผลิตมันสำปะหลังในประเทศไทย

ประจำปี	พื้นที่เก็บเกี่ยว (ไร่)	ผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ (ตัน)	ผลผลิตหัวมันสด (ตัน)
2555/56*	7,905,056	3.485	27,547,242
2554/55	7,911,323	3.362	26,601,090
2553/54	7,096,173	3.088	21,912,416
2552/53	7,302,839	3.013	22,005,740
2551/52	8,292,146	3.628	30,088,024
2550/51	7.397,098	3.401	25,155,797
2549/50	7,201,243	3.668	26,411,233

หมายเหตุ : * ตัวเลขผลสำรวจของคณะสำรวจมันสำปะหลัง 4 สมาคม

ที่มา : มูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย (2555)



ภาพที่ 2.1 เนื้อที่เพาะปลูกมนสำปะหลังของประเทศไทย

ที่มา : สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2550)

ตารางที่ 2.2 ปริมาณพื้นที่เก็บเกี่ยวและผลผลิตมันสำปะหลังในแต่ละจังหวัด

จังหวัด	พื้นที่เก็บเกี่ยว (ไร่)		ผลผลิตหัวมันสด (ตัน)	
	ปี 2554/55	ปี 2555/56	ปี 2554/55	ปี 2555/56
นครราชสีมา	1,759,167	1,771,765	5,982,857	6,236,613
บุรีรัมย์	200,978	199,308	683,524	665,689
ชัยภูมิ	368,864	393,574	1,227,857	1,358,617
สุรินทร์	58,812	59,519	184,906	188,497
ขอนแก่น	209,088	201,354	655,484	668,697
ศรีสะเกษ	108,584	108,366	365,921	392,285
อุบลราชธานี	209,828	222,949	677,736	755,797

ที่มา : มูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย (2555)

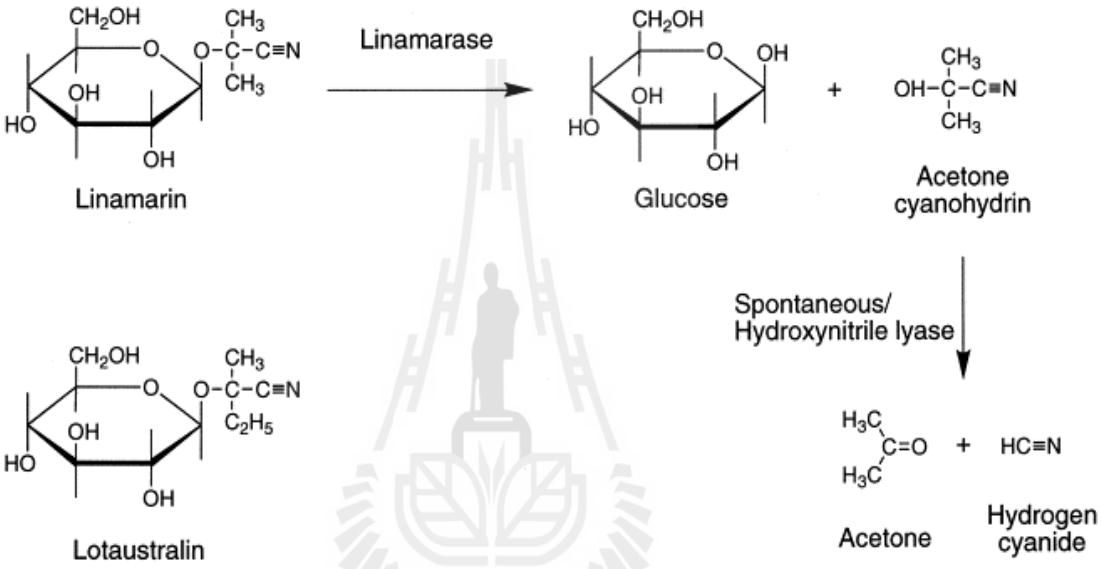
ตารางที่ 2.3 ปริมาณส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังของประเทศไทยในแต่ละปี

ประจำปี	มันเส้น (ตัน)	มันอัดเม็ด (ตัน)	แป้งมันสำปะหลัง (ตัน)
2549/50	3,867,625	1,365,622	1,961,096
2550/51	1,263,729	2,021,591	2,127,110
2551/52	2,887,275	300,818	2,120,408
2552/53	5,137,317	235,250	2,603,115
2553/54	3,268,213	31,224	2,493,412
2554/55	4,453,061	48,988	2,784,961

ที่มา : มูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย (2555)

อย่างไรก็ตามหัวมันสำปะหลังสดไม่ควรนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์เนื่องจากมีสารพิษไซยาไนด์ (cyanide) หรือไซยาโนจินิค ไกลโคไซด์ (cyanogenic glycosides) ในระดับที่สูงซึ่งจะเป็นอันตรายต่อสัตว์ (อุทัย คันโธ, 2529) สารหลักที่ก่อให้เกิดพิษไซยาโนจินิค ไกลโคไซด์ 2 ชนิด คือ ลินามาริน (linamarin) ประมาณ 93% และโลทอสตราลิน (lotaustralin) ประมาณ 7% สารไซยาโนจินิค ไกลโคไซด์สร้างขึ้นจากกรดอะมิโน 2 ตัว คือ วาลีน (valine) และไอโซลิวซีน (isoleucine) จากการสังเคราะห์ของวาลีนจะได้เป็นไกลโคไซด์ (glycoside) ของแอซิโตนไซยาโนไฮดริน (acetone cyanohydrin) หรือเรียกว่า ลินามาริน และการสังเคราะห์ไอโซลิวซีนจะได้โลทอสตราลิน (กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, 2546) สารประกอบที่สังเคราะห์ได้นี้จะอยู่ในเนื้อเยื่อ เมื่อเนื้อเยื่อถูกทำลาย เช่น การบด หรือการสับหัวมันจะมีการสลายตัวของสารประกอบเหล่านี้โดย

กระบวนการไฮโดรไลซีส (hydrolysis) กับเอนไซม์ (เสริมศักดิ์ มานะเลิศสกุล, 2546) และการเร่งปฏิกิริยาการสลายลินามารินด้วยเอนไซม์ลินามาเลส (linamerase) จะได้กรดไฮโดรไซยานิค (hydrocyanic acid; HCN) กลูโคส (glucose) และอะซีโตน (acetone) ดังแสดงในภาพที่ 2.2 สำหรับการย่อยสลายโลทอสตราลินจะได้กรดไฮโดรไซยานิค (hydrocyanic acid) กลูโคส (glucose) และบิวทาโนน (butanone)



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของลินามาริน โลทอสตราลิน และกระบวนการไฮโดรไลซีสลินามาริน
ที่มา : Yeoh (1998)

กรดไฮโดรไซยานิคเป็นสารพิษที่มีการสลายตัวได้ง่ายสามารถระเหยไปในอากาศ ทำให้ระดับของกรดไฮโดรไซยานิคในชิ้นมันสำปะหลังลดลงจนอยู่ในเกณฑ์ที่ไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์ (สกล คำไข่, 2547; เสกสม อาตมางกูร, ณัฐชนก อมรเทวภัทร, เนรมิต สุขมณี, สุกัญญา รัตนทับทิมทอง, ยุวเรศ เรื่องพานิช, ทิพย์มนต์ ใยเกษ และวรรณี ชิงปรีชา, 2550) นอกจากนี้การทำมันสำปะหลังหมักก็เป็นอีกวิธีที่สามารถลดสารพิษกรดไฮโดรไซยานิคได้ (อุทัย คันโธ, 2529) ดังนั้นการนำมันสำปะหลังมาเลี้ยงสัตว์ต้องทำการลดสารพิษกรดไฮโดรไซยานิคก่อน

2.2 กระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง

มันสำปะหลังสามารถนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ได้หลายชนิด เช่น แป้งมันสำปะหลัง มันเส้น และมันอัดเม็ด เป็นต้น โดยส่วนใหญ่หัวมันสำปะหลังสดที่ผลิตได้ในประเทศไทยจะนำมาแปรรูปเป็นแป้งมันสำปะหลัง จากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังจะเกิดผลพลอยได้คือ เปลือก

ราก และกากมันสำปะหลัง สำหรับกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังแบบสลัดแห้ง (แสดงในภาพที่ 2.3) มีขั้นตอนดังนี้ (กรมโรงงงานอุตสาหกรรม, 2551)

1. การเตรียมหัวมันสำปะหลังและการทำความสะอาด

การนำหัวมันสำปะหลังสดส่งไปยังเครื่องร่อนที่มีตะแกรงสำหรับร่อนดิน และทราย จากนั้นหัวมันสำปะหลังจะถูกลำเลียงเข้าสู่เครื่องล้าง (root washer) เพื่อทำความสะอาด ล้างฝุ่นหรือดินที่ติดอยู่บนหัวมันออกด้วยการใช้น้ำฉีด หัวมันสำปะหลังที่สะอาดจะถูกส่งเข้าเครื่องสับเพื่อทำให้มีขนาดเล็กลง และหัวมันสำปะหลังขนาดเล็กจะผ่านไปยังเครื่องโม่ (rasper) ในระหว่างการโม่มีการเติมน้ำเพื่อให้การโม่ง่ายขึ้นซึ่งจะได้เป็นของเหลวที่ผสมแป้ง น้ำ กากมันสำปะหลัง และสิ่งเจือปนอื่น ๆ

2. การสกัดแป้ง

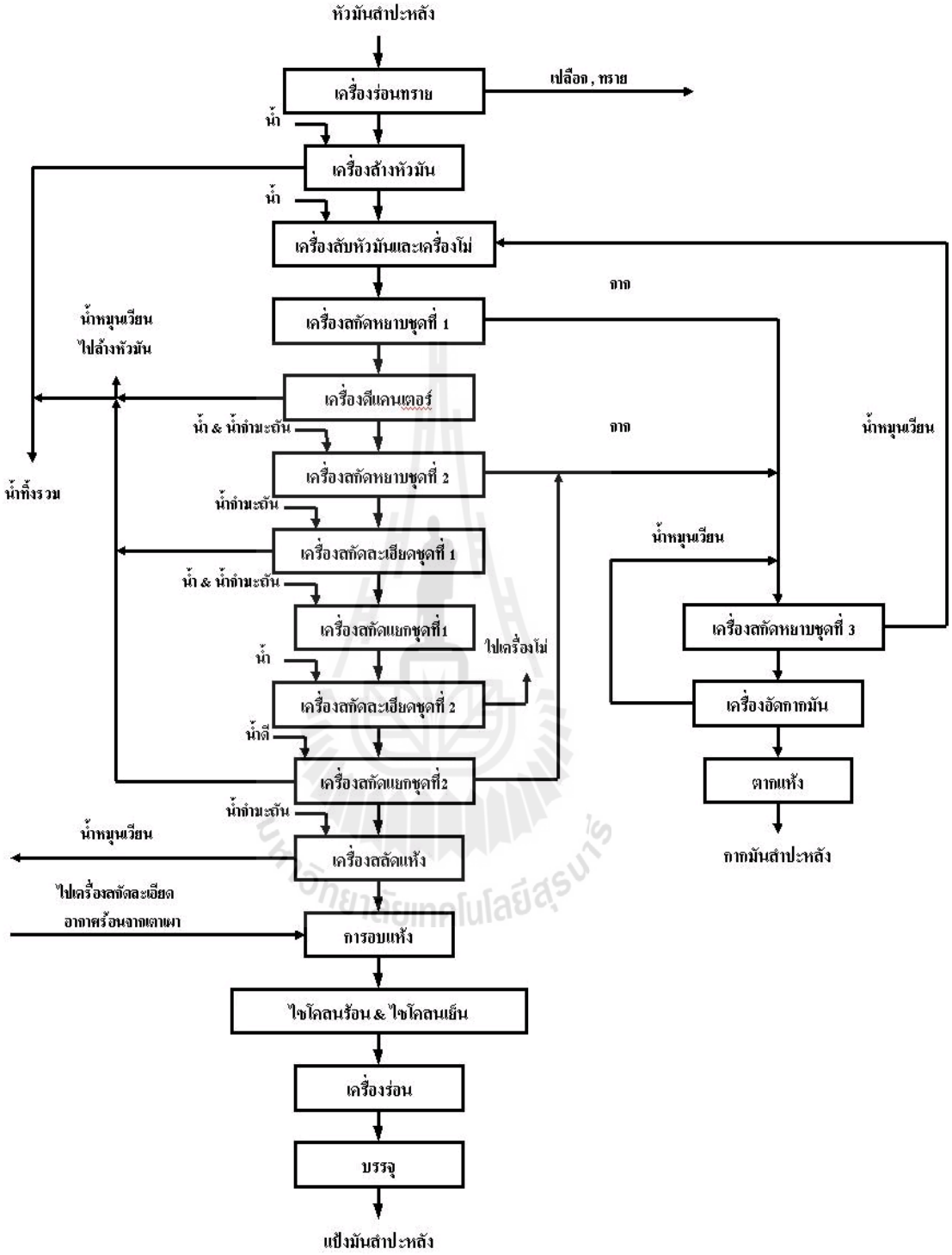
ของเหลวข้นที่ได้จะเข้าเครื่องดีแคนเตอร์ซึ่งเป็นการแยกน้ำที่มีโปรตีน และไขมันออกจากเนื้อแป้ง จากนั้นน้ำแป้งจะผ่านมาที่เครื่องสกัดแป้งที่แยกเป็น 2 ชุด คือ เครื่องแยกหยาบ (coarse extractor) และเครื่องแยกละเอียด (fine extractor) เพื่อแยกเอากากมันสำปะหลังออกจากน้ำแป้งจะได้น้ำแป้งที่ข้น

3. การทำให้แป้งแห้งและการบรรจุผลิตภัณฑ์

การส่งน้ำแป้งที่ได้เข้าสู่เครื่องเหวี่ยงเพื่อแยกน้ำออกจากแป้ง และพ่นแป้งเข้าสู่ท่อไอร้อน (ลมร้อนประมาณ 200ºC) ระยะเวลาที่ใช้ในการทำให้แป้งแห้งเป็นช่วงเวลาสั้น ๆ เพื่อป้องกันการรวมตัวของแป้งเป็นเม็ดจะได้แป้งมัน และปล่อยลงสู่เครื่องร่อนแป้งก่อนทำการบรรจุต่อไป

2.3 กากมันสำปะหลัง (cassava pulp)

กากมันสำปะหลังเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการเกษตรที่ได้จากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังซึ่งมีปริมาณมากในแต่ละปี ในการผลิตแป้งมันสำปะหลังถ้าใช้หัวมันสำปะหลังสด 100% จะได้กากมันสำปะหลังประมาณ 11.1% (เยาวมาลย์ ค้าเจริญ และสาโรช ค้าเจริญ, 2543) องค์ประกอบทางโภชนะของกากมันสำปะหลังอาจมีความแตกต่างกัน เนื่องมาจากความผันแปรของคุณภาพของหัวมันสำปะหลังในแต่ละภูมิภาค สายพันธุ์ ความอุดมสมบูรณ์ของดินที่ใช้เพาะปลูก อายุการเก็บเกี่ยว ฤดูกาล และวิธีการสกัดแป้ง จึงทำให้โภชนะของกากมันสำปะหลังมีสัดส่วนที่ต่างกัน อย่างไรก็ตามองค์ประกอบทางโภชนะของกากมันสำปะหลังในแต่ละแหล่งมีความแตกต่างกันไม่มาก เนื่องจากแต่ละโรงงานมีเทคโนโลยีในการสกัดแป้งมันสำปะหลังที่ทันสมัยไม่ต่างกัน โดยกากมันสำปะหลังมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นแป้งประมาณ 50 - 60% จึงสามารถนำกากมันสำปะหลังไปใช้เป็นวัตถุดิบแหล่งพลังงานสำหรับสัตว์ได้ ในกากมันสำปะหลังมีโปรตีนที่ต่ำประมาณ 2 - 3% และมีเยื่อใยสูงประมาณ 14% ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2.4



ภาพที่ 2.3 กรรมวิธีการผลิตแป้งมันสำปะหลัง

ที่มา : เสริมศักดิ์ (2546)

ตารางที่ 2.4 องค์ประกอบทางโภชนะของกากมันสำปะหลัง

Starch	Dry matter	Ash	Protein	Fat	Fiber	P	Ca	References
53.55	93.22	2.83	1.98	0.13	13.59	0.05	0.10	Khempaka et al. (2009)
47.96	88.66	4.50	2.69	0.39	14.75	0.02	0.57	ยุวเรศ และคณะ (2550)
47.97	88.66	5.73	3.42	0.50	14.75	-	-	ปรีดา และคณะ (2552)
50.20	89.12	5.32	2.35	0.53	14.57	-	-	สุเมธ และคณะ (2552)
-	89.51	4.91	2.68	0.25	14.38	0.33	0.24	*

หมายเหตุ : * วิเคราะห์โดยห้องปฏิบัติการอาหารสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2.3.1 โครงสร้างของแป้งในกากมันสำปะหลัง

กากมันสำปะหลังส่วนใหญ่จะนำมาทำให้แห้งแล้วนำมาใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ เนื่องจากมีโภชนะหลงเหลืออยู่ซึ่งประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตหรือแป้งเป็นหลัก โครงสร้างของแป้งในกากมันสำปะหลังประกอบด้วยพอลิเมอร์ของกลูโคส 2 ชนิด ดังแสดงในภาพที่ 2.4

1. อะไมโลส (amylose) เป็นพอลิเมอร์เชิงเส้นประกอบด้วยสายของกลูโคสขนาด 1,000 หน่วยที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α-1,4 glucosidic linkage โดยเกาะกันเป็นเส้นตรงไม่แตกกิ่งก้านสาขา และมีลักษณะเป็นเส้นเกลียว เมื่อทำปฏิกิริยากับไอโอดีนจะเกิดสีน้ำเงิน

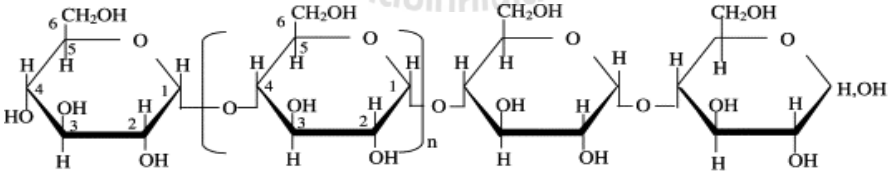
2. อะไมโลเพคติน (amylopectin) เป็นพอลิแซคคาร์ไรด์ที่มีโครงสร้างแขนงประกอบด้วยพอลิเมอร์เชิงเส้นของกลูโคสที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α-1,4 glucosidic linkage และจะแตกแขนงในทุก ๆ 20 - 30 หน่วยกลูโคส พอลิเมอร์เชิงเส้นของกลูโคส 12 - 23 หน่วยเชื่อมกันด้วยพันธะ α-1,6 glucosidic linkage เมื่อทำปฏิกิริยากับไอโอดีนจะเกิดสีแดงม่วง

2.4 การใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบอาหารสำหรับสัตว์ปีก

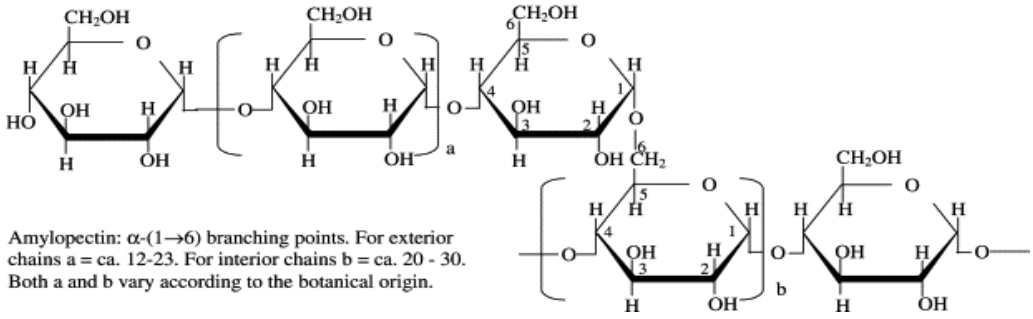
จากการรวบรวมเอกสารพบว่ากากมันสำปะหลังมีองค์ประกอบทางโภชนะที่สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ได้ เนื่องจากมีปริมาณของคาร์โบไฮเดรตหรือแป้งเหลืออยู่ประมาณ 50 - 60% และมีปริมาณไซยาไนด์เท่ากับ 16.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นระดับที่ปลอดภัยในการนำมาใช้ประกอบสูตรอาหารสัตว์ (ยุวเรศ เรืองพานิช และคณะ, 2550) ผลของการใช้กากมันสำปะหลังเพื่อเป็นแหล่งวัตถุดิบอาหารสำหรับสัตว์ปีกดังแสดงในตารางที่ 2.5 จากการศึกษาของยุวเรศ เรืองพานิช และคณะ (2550) และ Khempaka et al. (2009) พบว่ากากมันสำปะหลังสามารถใช้ในสูตรอาหารไก่เนื้อได้ 8 - 10% โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต แต่การใช้กากมันสำปะหลังในระดับที่มากเกินไป อาจส่งผลกระทบต่อการย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ เนื่องจากกากมันสำปะหลังมีปริมาณเยื่อใยที่สูง นอกจากนี้ผลการศึกษาของการใช้กาก

มันสำปะหลังในอาหารไก่ไข่ พบว่าสามารถใช้ได้ที่ระดับ 15% โดยไม่มีผลกระทบต่อการกินได้ ผลผลิตไข่ และน้ำหนักไข่ แต่มีผลต่อค่าคะแนนสีของไข่แดง โดยไข่แดงจะมีสีซีดลงตามระดับของกากมันสำปะหลังที่เพิ่มขึ้นในสูตรอาหาร (ยุวเรศ เรืองพานิช และคณะ, 2550; Chauynarong et al., 2010) อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มระดับการใช้กากมันสำปะหลังที่สูงขึ้นเป็น 20 และ 30% ในสูตรอาหารไก่ไข่ พบว่าผลผลิตไข่ลดลง เนื่องจากที่ระดับนี้อาหารมีความหนาแน่นต่ำ สามารถไหลผ่านในทางเดินอาหารได้เร็ว จึงส่งผลกระทบต่อการกินได้ และผลผลิตไข่ (Chauynarong et al., 2010)

กากมันสำปะหลังประกอบด้วย neutral detergent fiber (NDF) 36.7%, acid detergent fiber (ADF) 9.8% และ acid detergent lignin (ADL) 3.9% โดยเยื่อใยจัดอยู่ในกลุ่มของเฮมิเซลลูโลส ซึ่งเป็นเยื่อใยชนิดไม่ละลายน้ำ (insoluble fiber) สัตว์กระเพาะเดี่ยวไม่สามารถใช้ประโยชน์ได้ เยื่อใยชนิดนี้มีผลเร่งการเคลื่อนตัวของอาหารภายในลำไส้ โดยเยื่อใยจะเกิดการพองตัวในน้ำเหมือนฟองน้ำ ทำให้อาหารไม่มีความหนืดจึงเคลื่อนที่ผ่านลำไส้ได้เร็ว ดังนั้นไก่ที่ได้รับอาหารที่มีมันสำปะหลังเป็นส่วนประกอบมากเกินไป อาจทำให้ digesta มีความหนืดต่ำ มีการไหลผ่านในทางเดินอาหารเร็ว ส่งผลให้อัตราการย่อย การดูดซึม และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะลดลง (Suksombat, Lounglawan and Noosen, 2006; Sarikhan, Shahryar, Gholizadeh, Hosseinzadeh, Beheshti and Mahnoodnejad, 2010; Tang, Ru, Song, Choct and Iji, 2012) นอกจากนี้เยื่อใยในสูตรอาหารที่สูงเกินไปมีผลในการลดประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ในทางเดินอาหาร โดยไปขัดขวางการย่อย และการดูดซึมของโภชนะอื่น ๆ ด้วย (อุทัย คันโธ, 2529; Jimenez - Moreno, Gonzalez - Alvarado, Gonzalez - Sanchez, Lazaro and Mateos, 2010)



Amylose: α-(1→4)-glucan; average n = ca. 1000. The linear molecule may carry a few occasional moderately long chains linked α-(1→6).



Amylopectin: α-(1→6) branching points. For exterior chains a = ca. 12-23. For interior chains b = ca. 20 - 30. Both a and b vary according to the botanical origin.

ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของอะไมโลส และอะไมโลเพคติน

ที่มา : Tester et al. (2004)

ตารางที่ 2.5 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบอาหารสำหรับสัตว์ปีก

Treatment	BW (g)	FI (g/b/d)	FCR	Egg production (%)	Egg weight (g)	Yolk Color	References
Broilers (45 d)							ยุวเรศ และ
0% Cassava pulp	2756	106.69	1.75	-	-	-	คณะ (2550)
5% Cassava pulp	2697	105.39	1.76	-	-	-	
10% Cassava pulp	2678	105.34	1.77	-	-	-	
Broilers (42 d)							Khempaka et
0% Cassava pulp	2422[a]	108.71	2.03	-	-	-	al. (2009)
4% Cassava pulp	2411[a]	112.02	2.11	-	-	-	
8% Cassava pulp	2347[a]	113.93	2.23	-	-	-	
12% Cassava pulp	2149[b]	94.02	1.99	-	-	-	
16% Cassava pulp	2051[b]	89.36	1.99	-	-	-	
Laying hen (60 wk)							ยุวเรศ และ
0% Cassava pulp	-	122.67	-	83.86	69.55	6.77[a]	คณะ (2550)
5% Cassava pulp	-	122.39	-	84.02	69.66	6.05[b]	
10% Cassava pulp	-	121.77	-	83.72	69.74	5.26[c]	
15% Cassava pulp	-	121.36	-	84.03	69.47	4.34[d]	

หมายเหตุ : [a - d] Means in the same column with different letters are significantly different ($p<0.05$)

อย่างไรก็ตามการใช้กากมันสำปะหลังในการประกอบสูตรอาหารสัตว์ยังมีข้อจำกัด เนื่องจากกากมันสำปะหลังมีปริมาณโปรตีนต่ำ และปริมาณเยื่อใยสูง จึงใช้ประกอบสูตรอาหารได้ในระดับที่ต่ำ ด้วยเหตุนี้จึงมีแนวคิดในการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของกากมันสำปะหลังโดยวิธีการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งน่าจะเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการเพิ่มการใช้ประโยชน์จากกากมันสำปะหลังเพื่อเป็นแหล่งวัตถุดิบอาหารสำหรับไก่ไข่ได้

2.5 การปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของวัตถุดิบอาหารสัตว์โดยวิธีการหมัก

การหมักในทางชีวเคมีหมายถึง การสร้างพลังงานจากกระบวนการย่อยสลายหรือการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของสารประกอบอินทรีย์โดยอาศัยเอนไซม์เป็นตัวช่วย ซึ่งวัตถุดิบอาหารสัตว์คุณภาพต่ำหรือผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการเกษตรสามารถนำมาผ่านกระบวนการหมักเพื่อปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะให้ดีขึ้น และลดข้อจำกัดก่อนการนำไปใช้ประกอบสูตรอาหารสัตว์ได้

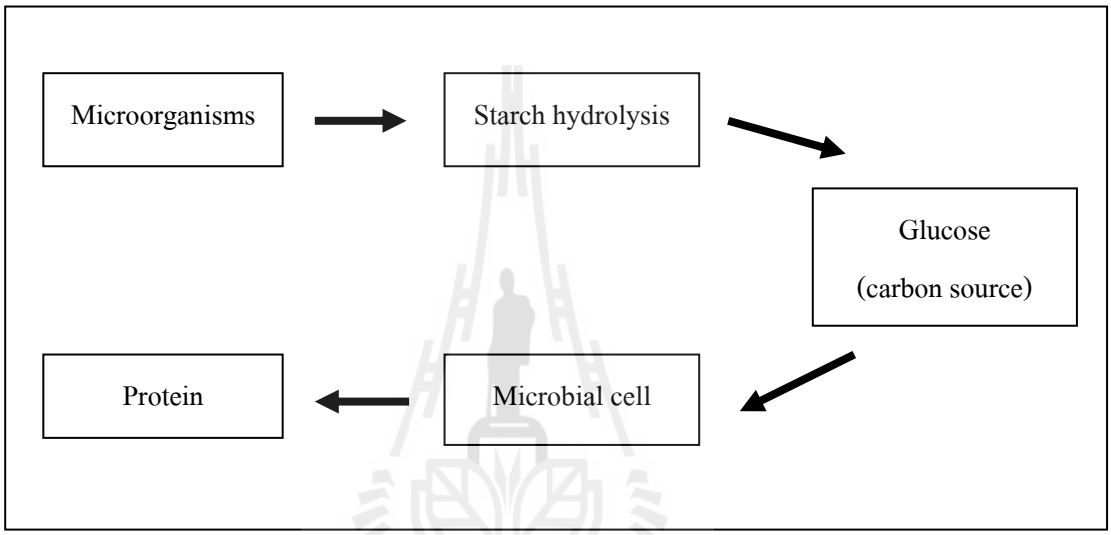
กระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์แบ่งตามลักษณะหรือปริมาณน้ำในอาหารได้ 3 แบบ คือ การหมักแบบแห้ง (solid-state fermentation) โดยมีการเติมน้ำเล็กน้อยเพื่อให้เหมาะต่อการเจริญของจุลินทรีย์ การหมักในอาหารกึ่งของเหลว (solid-solid fermentation) มีอาหารหมักเป็นของเหลวแต่มีของแข็งแขวนลอยบางส่วน และการหมักในอาหารเหลว (submerged fermentation) โดยเชื้อจุลินทรีย์เจริญในอาหารที่มีลักษณะเหลว (เสริมศักดิ์ มานะเลิศสกุล, 2546) ชนิดของการหมักสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ประเภท คือ การหมักเพื่อให้ผลผลิตเป็นตัวเซลล์ (microbial cell or biomass) การหมักที่ให้ผลผลิตเป็นเอนไซม์ (microbial enzyme) การหมักที่ให้ผลผลิตเป็นสาร เมทาบอไลท์ (microbial metabolite) และการหมักเพื่อเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบ (transformation process) จากที่กล่าวมาข้างต้นองค์ประกอบของกากมันสำปะหลังมีปริมาณแป้งเหลืออยู่จำนวนมาก โครงสร้างของแป้งส่วนใหญ่เป็น อะไมโลส และอะไมโลเพคติน ซึ่งสามารถใช้เป็นแหล่งอาหารสำหรับจุลินทรีย์ได้ ดังนั้นการหมักกากมันสำปะหลังครั้งนี้จะเป็นการหมักเพื่อให้ผลผลิตเป็นตัวเซลล์ จากการเพิ่มจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ส่งผลให้กากมันสำปะหลังหมักมีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้น ดังแสดงไว้ในภาพที่ 2.5

2.6 ปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการหมัก

กระบวนการหมักเป็นการแปรสภาพทางชีวเคมีเพื่อให้มีการเปลี่ยนแปลง วัตถุดิบเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ โดยอาศัยกิจกรรมการผลิตเอนไซม์ของจุลินทรีย์ องค์ประกอบหรือปัจจัยในกระบวนการหมักที่สำคัญ คือ ชนิดของจุลินทรีย์ สารอาหารสำหรับจุลินทรีย์ และสภาวะการหมัก เชื้อจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการหมักได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์ และรา จากการรวบรวมเอกสารพบว่าเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถนำมาหมักวัตถุดิบอาหารสัตว์และเพิ่มโปรตีนให้สูงขึ้น เช่น *Lactobacillus spp.*, *Schawanniomyces sp.*, *S. cerevisiae*, *C. utilis*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. oryzae* และ *Trichoderma pseudokoningii* (นันทกร บุญเกิด, สุรีลักษณ์ รอดทอง และหนึ่ง เตียอำรุง, 2543; อนันตภัทร บุญยะกมล และ วิชัย ลีลาวัชรมาศ, 2548; อุษณีย์ภรณ์ และคณะ, 2550; จรัญ ฉัตรมานพ., 2551; Oboh, 2006; Feng et al., 2007a; Heeok, Abanto, Kim, Nam, Son, Jung, Nam and Hwang, 2010; Thongkratok et al., 2010; David, 2011) ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้มีความต้องการสารอาหารในการเจริญเติบโต เพื่อใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึม และการสร้างพลังงาน โดยแหล่งอาหารที่สำคัญ ได้แก่ น้ำ คาร์บอน ไนโตรเจน วิตามิน และแร่ธาตุต่าง ๆ องค์ประกอบของสารอาหารมีความสำคัญในการทำให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตได้แตกต่างกัน

สารอาหารสำหรับจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีสารอินทรีย์ที่เป็นสารตั้งต้น (substrate) จากเอนไซม์ที่จุลินทรีย์สร้างขึ้น จากผลการศึกษาของสับสเตรตที่เหมาะสมต่อการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล (saccarification) โดยการเปรียบเทียบระหว่างสับสเตรตที่ต่างกัน 4 ชนิด คือ มันเส้นมันสด

มันเส้นนึ่ง และมันสดนึ่ง พบว่าการนึ่งวัตถุดิบก่อนการหมักมีอิทธิพลต่อความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ในการผลิตเอนไซม์ออกมาย่อยสับสเตรต ซึ่งการนึ่งสามารถช่วยลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ตั้งต้นที่มีในมันสำปะหลัง จึงสามารถลดภาวะแข่งขันจากเชื้ออื่นในระยะเริ่มต้นการหมักได้ นอกจากนี้การนึ่งยังทำให้โมเลกุลของแป้งมีขนาดสั้นลง ช่วยให้เอนไซม์อะไมเลสทำงานได้เร็วขึ้น (นันทกร และคณะ, 2543)



ภาพที่ 2.5 การเพิ่มโปรตีนโดยจุลินทรีย์ในวัสดุหมัก

ปัจจัยหลักที่จุลินทรีย์ใช้สำหรับการดำเนินกิจกรรมการหมัก ได้แก่

1. สารตั้งต้น ต้องมีการเตรียมให้เหมาะสมต่อกระบวนการหมักเพื่อให้จุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้อย่างมีประสิทธิภาพได้แก่ แหล่งน้ำ จุลินทรีย์ต้องการน้ำในการเจริญเติบโต ซึ่งน้ำในอาหารแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ น้ำผูกพัน (bound water) เป็นน้ำที่ถูกยึดไว้ด้วยพันธะทางเคมีภายในโมเลกุลของอาหาร และน้ำอิสระ (free water) เป็นน้ำที่เกาะอยู่กับอาหารอย่างหลวม ๆ โดยน้ำอิสระเป็นน้ำที่จุลินทรีย์นำมาใช้ในการเจริญเติบโต แหล่งคาร์บอน เป็นสารประกอบอินทรีย์ในอาหาร สารอาหารที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน ได้แก่ น้ำตาลชนิดต่าง ๆ เช่น กลูโคส ฟรุกโตส และแหล่งคาร์บอนในรูปของโพลีแซคคาไรด์ เช่น แป้ง เซลลูโลส ซึ่งคาร์โบไฮเดรตนั้นจะเป็นแหล่งคาร์บอนที่สำคัญสำหรับจุลินทรีย์ และแหล่งไนโตรเจน โดยไนโตรเจนเป็นธาตุที่จำเป็นสำหรับการสังเคราะห์โปรตีนที่มีบทบาทในการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรม ไนโตรเจนได้จากโปรตีนหรือกรดอะมิโน ยูเรีย สารประกอบอื่น ๆ ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ นันทกร และคณะ (2543) ทำการศึกษาการใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนของกระบวนการหมักมันสำปะหลัง โดยใช้ยูเรียที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.25% ตามลำดับ พบว่ายูเรียที่ระดับ 1% สามารถเพิ่มปริมาณ

โปรตีนได้สูงสุด จาก 11.37% เป็น 19.45% และมีปริมาณอะมิโนไนโตรเจนสูงที่สุด Thongkratok et al. (2010) ศึกษาการเพิ่มโปรตีนในกากมันสำปะหลังโดยวิธีการหมักด้วยเชื้อ *A. oryzae*, *S. cerevisiae* และ *C. utilis* ใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ1.25% พบว่าการหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. oryzae* ที่ระดับยูเรีย 0.75% สามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนได้สูงสุด นอกจากนี้การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของรา *Rhizopus oligosporus* บนกากมันสำปะหลังที่มียูเรียในระดับ 0, 0.6, 0.9, 1.25, และ 2.5% พบว่ารา *R. oligosporus* เจริญเติบโตได้ดีที่สุดเมื่อเติมยูเรีย 1.25% ซึ่งส่งผลให้มีปริมาณกลูโคซามีนสูงสุด แต่เมื่อเติมยูเรียมากกว่า 1.25% ทำให้ปริมาณกลูโคซามีนลดลง เนื่องจากระดับยูเรียที่มากเกินไปจะมีผลเป็นพิษกับเซลล์ของจุลินทรีย์ (เสริมศักดิ์, 2546)

สารอาหารอื่น ๆ ที่มีความสำคัญต่อกระบวนการหมัก เช่น วิตามิน และแร่ธาตุ แหล่งวิตามินจะเป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโต (growth factor) และทำหน้าที่ช่วยในการทำงานของเอนไซม์ จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ต้องการไบโอติน (biotin) และไรโบฟลาวิน (riboflavin) เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต แหล่งของแร่ธาตุมีผลต่อการรักษาสมดุลของสารละลายภายใน และภายนอกเซลล์ทำให้เซลล์คงรูปอยู่ได้ ซึ่งเกลือแร่จะมีผลต่อการถ่ายเทอิเลกตรอนในรูปของอิออน เพื่อช่วยในกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์จุลินทรีย์

2. สภาวะการหมัก มีปัจจัยที่สำคัญ ได้แก่ อากาศ ความชื้น อุณหภูมิ ความเป็นกรด - ด่าง และสารยับยั้งการเจริญเติบโต จุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศปริมาณน้อยในกระบวนการหมัก เช่น ยีสต์ และแลคโตบาซิลลัส แต่ก็มีจุลินทรีย์บางชนิด เช่น ราต้องการอากาศในปริมาณมากขึ้นเพื่อการสร้างเอนไซม์ และการเจริญเติบโต

จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความต้องการความชื้นแตกต่างกัน เช่น ราไม่ชอบเจริญในอาหารที่มีความชื้นมากหรือเปียก แต่จะเจริญได้ดีในอาหารที่มีความชื้นอยู่บ้าง ในขณะที่แบคทีเรียหรือยีสต์มักเจริญในอาหารที่มีลักษณะเปียกแฉะมีน้ำอยู่มากเป็นต้น ความชื้นมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของรา การถ่ายโอนก๊าซออกซิเจน คาร์บอนไดออกซด์ และการถ่ายเทความร้อน ซึ่งจะมีผลต่อการผลิตเอนไซม์ของรา จรัญ ฉัตรมานพ (2551) ศึกษาทดลองการปรับปริมาณความชื้นเริ่มต้นของวัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีและรำข้าวเจ้าที่หมักด้วยเชื้อ *A. oryzae* โดยมีระดับความชื้นเป็น 45, 50, และ 60% พบว่าความชื้นเริ่มต้นที่ 50% มีความเหมาะสมที่สุดในการหมัก นอกจากนี้การทดลองของ Oboh (2006) รายงานว่าความชื้นที่เหมาะสมสำหรับการหมักเปลือกมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *L. delbruckii*, *L. Coryneformis* และ *S. Cerevisiae* ในอัตราส่วน 2 : 1 : 1 คือ 90 - 93% ที่ทำให้ระดับโปรตีนเพิ่มขึ้นจาก 8.2 เป็น 21.5%

อุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญอีกปัจจัยหนึ่งในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ถ้าอุณหภูมิในกระบวนการหมักไม่เหมาะสำหรับจุลินทรีย์ที่ต้องการจะทำให้จุลินทรีย์ชนิดนั้นเจริญเติบโตได้ไม่ดี

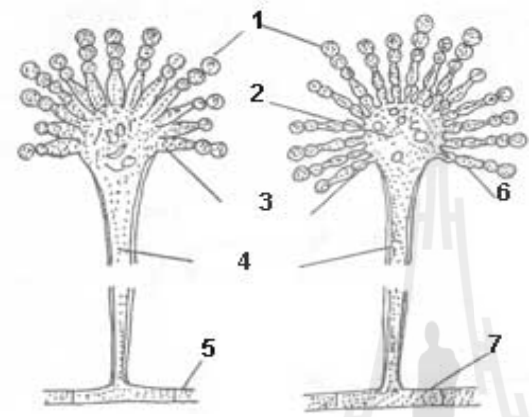
แต่จุลินทรีย์ชนิดอื่นเจริญได้เร็วกว่า การศึกษาของ ธัญรัตน์ สหายา, จรัญ ฉัตรมานพ และ เพ็ญจิตร ศรีนพคุณ (2551) ศึกษาผลของอุณหภูมิ และความชื้นในการหมักรำข้าวสาลีต่อรำข้าวเจ้าด้วยเชื้อรา *A. oryzae* พบว่าเมื่อเวลาการหมักผ่านไป 24 ชั่วโมง เชื้อรา *A. oryzae* จะนำสารอาหารจากวัสดุหมักไปใช้ในการเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็วทำให้มีอัตราการเจริญเติบโตสูงพร้อมกับมีการคายความร้อนออกมาปริมาณมาก ซึ่งการหายใจ และกระบวนการเมแทบอลิซึมของเชื้อรา *A. oryzae* เป็นผลทำให้เกิดการสะสมความร้อนในวัสดุหมักที่มีอุณหภูมิสูงขึ้นถึง 54ºC พบว่าอุณหภูมิที่สูงจะทำให้เชื้อราตายได้ซึ่งเชื้อรา *A. oryzae* จะเจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 30 - 40ºC ดังนั้นการทดลองจึงมีการให้อากาศเพิ่มไปในการหมักตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 เพื่อช่วยในการลดอุณหภูมิในกระบวนการหมัก นอกจากนี้การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อรา *A. oryzae* บนปลายข้าวหอมมะลิต่อน้ำในอัตราส่วน 10 : 4 โดยการนำเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 และ 28ºC ที่อุณหภูมิห้อง (28 - 32ºC) ทำการบ่มเป็นเวลา 5 วัน พบว่าการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35ºC มีจำนวนสปอร์สูงสุดเมื่อตรวจนับด้วยวิธี spread plate (บุญศรี จงเสรีจิตต์, 2543)

ความเป็นกรด - ด่าง หรือ pH ของการหมักควรจะควบคุมค่า pH ให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสม สำหรับกิจกรรมของจุลินทรีย์ จากการศึกษาระดับ pH ในกระบวนการหมักมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *Chlamydomucor* และ *C. utilis* พบว่าระดับ pH 5 - 6 มีความเหมาะสมที่สุดในกระบวนการหมัก ทำให้ปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นเป็น 19.45% (นันทกร บุญเกิด และคณะ, 2543) นอกจากนี้สารยับยั้งการเจริญ เช่น เกลือมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์หลายชนิดโดยเฉพาะกลุ่มจุลินทรีย์ก่อโทษ

การหมักวัตถุดิบด้วยเชื้อราส่วนใหญ่เป็นการหมักแบบแห้ง โดยลักษณะการเจริญของเชื้อราจะสร้างเส้นใยบนวัสดุหมัก เชื้อราที่ใช้ในกระบวนการหมักมีหลายชนิด เช่น *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus oryzae*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus oryzae*, *Amylomyces rouxii* และ *Trichoderma viride* เป็นต้น (กรกช ฮามสุโพธิ์, ทรงศักดิ์ วัฒนชัยสรีกุล และ เพ็ญจิตร ศรีนพคุณ, 2545; เสริมศักดิ์ มานะเลิศสกุล และ เพ็ญจิตร ศรีนพคุณ, 2545; อุษณีย์ ภรณ์ และคณะ, 2550; กัลยานี วุฒศรี, เพิ่มศักดิ์ ศิริวรรณ และบัวเรียม มณีวรรณ, 2551; Feng et al., 2007a; Oboh and Elusiyan, 2007; Belewu and Babalola, 2009; Adamafio, Sakyiamah and Tettey, 2010; Ezekiel1, Aworh, Blaschek and Ezeji, 2010; Thongkratok et al., 2010)

เชื้อราในกลุ่มของ *Aspergillus* พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ เช่น ดิน ซากพืช ซากสัตว์ และมูลสัตว์ โครงสร้างของเชื้อรา *Aspergillus* (แสดงในภาพที่ 2.6) มีลักษณะเป็นเส้นใยแตกแขนง มีผนังกั้น แต่ละส่วนที่กั้นมีนิวเคลียสหลายอัน ประกอบด้วย ก้านชูสปอร์ (conidiophore) ที่เกิดจากฟุตเซลล์ (foot cell) ก้านชูสปอร์อาจมีผนังกั้นหรือไม่มีก็ได้ ส่วนปลายของก้านชูสปอร์จะโป่งออกเป็นเวสซิเคิล (vesicle) ส่วนที่ยื่นออกมาเป็นสเตอริกมา (sterigma) อาจมีชั้นเดียวหรือสองชั้น โคนิเดีย

(conidia) สร้างขึ้นในสเตอริกมา โดยโคนิเดียที่ถูกสร้างภายหลังจะดันโคนิเดียอันแรกออกมาจึงเกิดเป็นสายของโคนิเดีย (ชลนิชา ทองขลิน, 2548) ซึ่งโคโลนีหรือสปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus* มีทั้งสีเหลือง เขียวปนเหลือง น้ำตาลเหลือง หรือสีเขียว ลักษณะคล้ายกำมะหยี่หรือเป็นปุยคล้ายสำลี แตกต่างกันตามแต่ละชนิด (species) ของเชื้อรา



1. Conidia
2. Vesicle
3. Primary Sterigma
4. Conidiophores
5. Vegetative Hyphae
6. Secondary Sterigma
7. Foot Cell

ภาพที่ 2.6 ลักษณะโครงสร้างของเชื้อรา *Aspergillus*
ที่มา : http://www.studentsguide.in

เชื้อรา *Aspergillus* มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ได้หลายชนิด เช่น แอลฟาอะไมเลส (α-amylase) กลูโคอะไมเลส (glucoamylase) โปรติเอส (protease) และเซลลูเลส (cellulose) ทั้งนี้ยังมีบทบาทสำคัญในอุตสาหกรรมหลายชนิด เช่น การผลิตกรด (กรดซิตริก กรดอิตาโคนิก) การหมักซีอิ๊ว การผลิตเอนไซม์ (xylanase, amylase, cellulose, ß-glucanase) และการผลิตยาปฏิชีวนะ เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามมี *Aspergillus* บางชนิดที่สามารถสร้างสารพิษ เช่น อะฟลาทอกซิน ได้แก่ *A. flavusc* และ *A. Paraciticus* เป็นต้น

ดังนั้นการเลือกเชื้อจุลินทรีย์สำหรับใช้ในกระบวนการหมักต้องเป็นจุลินทรีย์ที่ไม่ก่อให้เกิดสารพิษ และไม่เป็นอัตรายต่อสัตว์ ซึ่ง *A. oryzae* เป็นเชื้อราที่มีประโยชน์ไม่สร้างสารพิษ มีการใช้ในการหมักทำหัวเชื้อในการผลิตซีอิ้ว เต้าเจี้ยว และอาหารหมักพื้นบ้านของชาวเอเชียตะวันออก (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545) จึงสามารถนำมาใช้ในกระบวนการผลิตอาหารสัตว์ได้อย่างปลอดภัย ซึ่งเชื้อรา *A. oryzae* เป็นเชื้อราที่สร้างสปอร์สีเหลืองปนเขียว สร้างเส้นใยสีขาว และปริมาณเส้นใยที่สร้างเป็นสัดส่วนโดยตรงกับกิจกรรมของเอนไซม์ โดยเชื้อรา *A. oryzae* สามารถผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส กลูโคอะไมเลส โปรติเอส และเซลลูเลส (Francis, Sabu, Nampoothiri, Szakacs and Pandey, 2002; Chutmanop, Chuichlcherm, Chisti and Srinophakun, 2008; Begum, Absar and Shah Alam, 2009; Zambare, 2010) เอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตได้มีความคงทนต่อ pH ในช่วง 5 - 8.5,

4.5 - 10.5 และ 3 - 6.3 ตามลำดับ และคงทนต่ออุณหภูมิ 50ºC (สุนันทา วงศ์ปิยชน, ละม้ายมาศ ยังสุข และพูลศรี สว่างจิต, 2550; จรัญ ฉัตรมานพ, 2551; มานิตย์ อ่อนนางใย, 2553)

การย่อยสลายแป้งในกากมันสำปะหลังต้องอาศัยเอนไซม์ที่สามารถย่อยพันธะระหว่าง α-1,4 glucosidic และ α-1,6 glucosidic ของอะไมโลส และอะไมโลเพคติน โดยเอนไซม์ย่อยภายใน (endoamylase) เป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายพันธะชนิด α-1,4 glucosidic ในโมเลกุลของแป้งได้ เอนไซม์ชนิดนี้คือ แอลฟาอะไมเลส ซึ่งจะย่อยสลายแป้งให้เป็นน้ำตาลหรือโมเลกุลที่เล็กลงได้ผลิตภัณฑ์เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) และแอลฟาลิมิตเด็กทริน (α-limit-dextrins) ส่วนเอนไซม์ย่อยภายนอก (exoamylase) เป็นเอนไซม์ที่ตัดพันธะของ α-1,4 glucosidic และ α-1,6 glucosidic คือ เอนไซม์กลูโคอะไมเลส ซึ่งย่อยแป้งในกากมันสำปะหลังได้ผลผลิตเป็นกลูโคส จากเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายแป้งของกากมันสำปะหลังนั้นพบว่าเชื้อรา *A. oryzae* สามารถผลิต และใช้ประโยชน์จากแป้งของกากมันสำปะหลังได้ นอกจากนี้เชื้อรา *A. oryzae* ยังสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ซึ่งจะช่วยย่อยคาร์โบไฮเดตรในกลุ่มของเยื่อใยในกากมันสำปะหลังได้

2.7 ผลของการหมักวัตถุดิบอาหารสัตว์

กระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์ประกอบด้วยอาหารหรือสารตั้งต้น เพื่อให้จุลินทรีย์มีความสามารถในการเจริญเติบโต และเพิ่มจำนวนเซลล์ ซึ่งสารตั้งต้นส่วนใหญ่จะเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีความสำคัญต่อการเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อการสร้างพลังงาน นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้องได้แก่ ความชื้น pH แหล่งไนโตรเจน และแร่ธาตุ ผลของการเพิ่มโปรตีนจากการหมักวัตถุดิบอาหารสัตว์ด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ดังแสดงในตารางที่ 2.6 Feng et al. (2007a) และ Oboh and Elusiyan (2007) ศึกษาการหมักวัตถุดิบอาหารสัตว์ด้วยเชื้อรา *A. oryzae* พบว่าสามารถเพิ่มโปรตีนในวัตถุดิบได้สูงขึ้น ($p<0.05$) นอกจากนี้การทดลองพบว่าวัตถุดิบที่ผ่านกระบวนการหมักนั้นสามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนได้เช่นกัน (Zamora and Veum, 1978; Zamora and Veum, 1979; Akindahunsi, Oboh and Oshodi, 1999)

การหมักมันสำปะหลังและผลิตภัณฑ์จากมันสำปะหลังเป็นกระบวนการหมักที่ให้ผลผลิตเป็นตัวเซลล์ ซึ่งการเพิ่มจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์บนผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังสามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนในวัสดุหมักได้ จากปริมาณของจุลินทรีย์ที่เพิ่มจำนวนขึ้น ซึ่งปริมาณโปรตีนที่เพิ่มอาจขึ้นอยู่กับสารตั้งต้นที่มีความเหมาะสมกับเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิด ผลของการหมักเพื่อเพิ่มโปรตีนในมันสำปะหลัง และผลพลอยได้จากมันสำปะหลัง ดังแสดงในตารางที่ 2.7 จากผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังที่มีปริมาณโปรตีนต่ำเมื่อนำมาผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ พบว่ามีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้น ($p<0.05$) (ฤทัยรัตน์ โต้งกระโทก, 2553; อนันตภัทร และวิชัย, 2548; Oboh, 2006: Oboh and Elusiyan., 2007; Boonnop, Wanapat, Nontaso and Wanapat, 2009; Ezekiel et al.

2010) โดย Adamafio et al. (2010) ศึกษาการหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. niger*, *A. flavus* และ *Lactobacillus* แล้วนำน้ำหมักที่ได้ไปหมักเปลือกมันสำปะหลัง พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนในเปลือกมันสำปะหลังได้ ส่วนเยื่อใย และคาร์โบไฮเดรตมีปริมาณลดลง ($p<0.05$) เนื่องจากจุลินทรีย์ใช้คาร์โบไฮเดรตทั้งในรูปแป้ง และเยื่อใยเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับสร้างพลังงานให้กับเซลล์ เช่นเดียวกับการทดลองของ David. (2011) พบว่าการหมักกากผลไม้ก่อนนำมาใช้ประกอบสูตรอาหารไก่เนื้อสามารถเพิ่มโปรตีน และลดปริมาณเยื่อใยได้

นอกจากนี้ Thongkratok et al. (2010) ศึกษาการเพิ่มโปรตีนในกากมันสำปะหลังโดยการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่ต่างกัน 3 ชนิด คือ *A. oryzae*, *S. cerevisiae* และ *C. utilis* ใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ระดับ 0, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 และ 1.25% ระยะเวลาหมัก 7 วัน พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดสามารถเพิ่มน้ำตาลรีดิวท์ โปรตีน และอะมิโนไนโตรเจนได้ ($p<0.05$) โดยเชื้อรา *A. oryzae* เป็นเชื้อที่เหมาะสมที่สุดในการหมักกากมันสำปะหลังร่วมกับยูเรียที่ระดับ 0.75% หลังการหมักเป็นเวลา 4 วัน ซึ่งสภาวะดังกล่าวสามารถเพิ่มปริมาณโปรตีน และอะมิโนไนโตรเจนได้ จาก 2.59% และ 0.89% เพิ่มเป็น 17.40% และ 15.13% ซึ่งการเพิ่มปริมาณโปรตีน และอะมิโนไนโตรเจนเป็นผลที่เกิดขึ้นจากการเพิ่มจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ในระหว่างกระบวนการหมัก (Belewu and Babalola, 2009)

จากการรวบรวมข้อมูลการหมักวัตถุดิบอาหารสัตว์ด้วยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ สามารถปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะให้ดีขึ้นได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเพิ่มปริมาณโปรตีนในวัสดุหมัก นอกจากนี้การหมักมันสำปะหลัง และกากมันสำปะหลังยังสามารถลดปริมาณไซยาไนด์ได้ ($p<0.05$) โดยอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์ในกระบวนการหมัก (Oboh, 2006; Oboh and Elusiyan, 2007; Boonnop et al., 2009) สอดคล้องกับผลของการหมักเปลือกมันสำปะหลังด้วยน้ำกากมันสำปะหลังหมักช่วยให้ปริมาณของไซยาไนด์ลดลง (Adamafio et al., 2010) เช่นเดียวกันวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ผ่านกระบวนการหมักสามารถที่จะลดปริมาณสารต้านโภชนะที่มีอยู่ในวัตถุดิบชนิดนั้นๆได้ เช่น แทนนิน กรดไฟทิก และ ทริปซิน (Feng et al., 2007a; Dei et al., 2008; David, 2011) จากการทำงานของจุลินทรีย์ที่ปล่อยเอนไซม์เพื่อย่อยสลายวัตถุดิบ

2.8 ผลของการใช้มันสำปะหลังและกากมันสำปะหลังหมักในอาหารสัตว์ปีก

ผลของการใช้มันสำปะหลัง และกากมันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักเพื่อเป็นวัตถุดิบอาหารสำหรับสัตว์ปีก ดังแสดงในตารางที่ 2.8 อุษณีย์ภรณ์ สร้อยเพ็ชร์ และคณะ (2550) ศึกษาการหมักมันสำปะหลังด้วยเชื้อรา *A. niger* พบว่าการใช้มันสำปะหลังหมักในอาหารเป็ดที่ระดับ 10% สามารถเพิ่มน้ำหนักตัว และประสิทธิภาพการใช้อาหารได้ กัลยานี วุฒเศรี และคณะ (2551) ศึกษาการใช้มันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. rouxii* พบว่าสามารถใช้ในสูตรอาหารไก่เนื้อได้สูงสุดที่ระดับ

10% โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต ฤทัยรัตน์ โต้งกระโทก (2553) ศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ในอาหารไก่เนื้อ พบว่าสามารถใช้ได้ถึงระดับ 16% โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ สมรรถนะการเจริญเติบโต และคุณภาพซาก ยิ่งไปกว่านั้นสามารถใช้ในสูตรอาหารไก่เนื้อได้มากกว่ากากมันสำปะหลังปกติ

ผลของการใช้มันสำปะหลังหมักด้วย *S. cerevisiae* (cassava yeast) ในอาหารไก่ไข่ พบว่า cassava yeast ไม่มีผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของแม่ไก่ อย่างไรก็ตาม cassava yeast ทำให้ผลผลิตไข่ลดลง แต่น้ำหนักไข่เพิ่มขึ้น (Chumpawadee et al., 2009) วิรชัย พลโรม, อุษา กลิ่นหอม และชูศรี ตลับมุข (2536) ศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลังจากการผลิตแอลกอฮอล์เพื่อทดแทนข้าวโพดในอาหารไก่ไข่ พบว่าสามารถใช้กากมันสำปะหลังหมักได้ถึง 30% ในสูตรอาหารโดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และผลผลิตไข่ แต่พบว่าค่าคะแนนสีของไข่แดงจะลดลงตามระดับของสูตรอาหารที่มีกากมันสำปะหลังหมักเพิ่มขึ้น ดังนั้นการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของมันสำปะหลัง และกากมันสำปะหลังโดยการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้สามารถเพิ่มระดับการใช้วัตถุดิบดังกล่าวได้สูงขึ้น

จากการรวบรวมข้อมูลที่กล่าวมาข้างต้นพบว่ากระบวนการหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อรา *A. oryzae* น่าจะสามารถปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของกากมันสำปะหลังให้ดีขึ้น และสามารถใช้ในสูตรอาหารไก่ไข่ได้เพิ่มขึ้น เนื่องจากเชื้อรา *A. oryzae* เป็นเชื้อราที่มีประโยชน์และมีการใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารสำหรับมนุษย์ ดังนั้นการเลือกใช้เชื้อราชนิดนี้ในการหมักกากมันสำปะหลังจึงมีความปลอดภัยต่อสัตว์ โดยการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้เชื้อรา *A. oryzae* ในการหมักกากมันสำปะหลัง ร่วมกับยูเรีย 0.75% และหมักเป็นเวลา 4 วัน เพื่อนำกากมันสำปะหลังหมักมาใช้ประกอบสูตรอาหารสำหรับไก่ไข่

ตารางที่ 2.6 องค์ประกอบทางโภชนะของวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

Treatment	Nutrient (%DM)					References
	DM	Ash	Protein	Fat	Fiber	
Soybean meal	88.2[a]	-	43.7[a]	8.4[a]	-	Feng et al. (2007a)
A. oryzae	91.2[b]	-	46.3[b]	9.9[b]	-	
Dehulled soybean	-	4.4	43.4	20.4	5.1	Zamora and Veum
meal	-	4.6	45.4	21.7	4.6	(1978)
A. oryzae	-	4.4	45.9	22.0	5.2	
R. oligosporus						
Whole soybean	-	5.4	43.4	18.5	7.2	Zamora and Veum
A. oryzae	-	6.2	45.4	21.6	7.0	(1979)
R. oligosporus	-	6.0	45.9	18.7	7.0	
Cassava flour	-	2.3	4.4	3.8	3.8	Akindahunsi et al.
R. oryzae	-	4.2	8.7	2.0	3.5	(1999)
Cassava gari	-	1.9	3.6	3.6	3.7	
R. oryzae	-	2.3	5.6	4.2	3.7	
Cassava	-	0.9[b]	4.7[c]	1.1[b]	2.7[a]	Oboh and Elusiyan
R. oryzae	-	2.9[a]	8.8[b]	4.5[a]	1.6[b]	(2007)
S. cerevisiae	-	3.0[a]	9.6[a]	5.0[a]	1.8[b]	
Cassava yeast	88.28	8.69	9.94	0.42	5.61	Chumpawadee et al. (2009)

หมายเหตุ : [a - c] Means in the same column with different letters are significantly different ($p<0.05$)

ตารางที่ 2.7 องค์ประกอบทางโภชนะของผลิตภัณฑ์จากมันสำปะหลังที่หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

Treatment	Nutrient (%DM)					References
	Protein	Fat	Fiber	Ash	Carbohydrate	
Cassava peel	8.2 [c]	3.1 [a]	12.5 [a]	6.4 [b]	64.6 [a]	Oboh (2006)
Naturally[1]	11.1 [b]	3.5 [a]	6.5 [b]	6.0 [b]	67.3 [a]	
Inoculated[2]	21.5 [a]	2.1 [b]	11.7 [a]	7.2 [a]	51.1 [b]	
Cassava flour[3]	6.4 [b]	2.9 [b]	3.8 [d]	1.4 [a]	85.5 [b]	Oboh and
R. oryzae	10.5 [e]	7.4 [d]	1.9 [a]	2.6 [b]	77.6 [a]	Elusiyan. (2007)
S. cerevisiae	12.6 [f]	8.0 [d]	2.1 [a]	2.5 [b]	74.8 [a]	
Cassava flour[4]	4.7 [a]	1.1 [a]	2.7 [c]	0.9 [a]	90.6 [c]	
R. oryzae	8.8 [c]	4.5 [c]	1.6 [a]	2.9 [b]	76.0 [a]	
S. cerevisiae	9.6 [d]	5.0 [c]	1.8 [a]	3.0 [b]	74.5 [a]	
Cassava chip	3.4 [a]	2.7 [a]	-	-	-	Boonnop et al.
S. cerevisiae	32.5 [b]	5.8 [b]	-	-	-	(2009)
Fresh cassava root	3.2 [a]	2.3 [a]	-	-	-	
S. cerevisiae	21.1 [c]	3.0 [a]	-	-	-	
Cassava peel	4.21 [b]	1.37 [c]	8.46 [b]	3.27 [c]	51.93 [a]	Ezekiel et al.
T. viride	36.52 [a]	2.23 [a]	12.88 [a]	15.49 [b]	26.07 [b]	(2010)
T. viride+amylases	37.63 [a]	1.83 [b]	11.93 [a]	17.80 [a]	24.34 [c]	
Cassava pulp						อนันตภัทร และ
S. occidentalis	22.03	0.43	18.46	-	-	วิชัย (2546)
Cassava pulp						ฤทัยรัตน์ (2553)
A. oryzae	11.82	0.15	10.60	1.58	33.55	

หมายเหตุ : [a - f] Means in the same column with different letters are significantly different ($p<0.05$)

[1] การหมักที่ไม่มีการใส่เชื้อจุลินทรีย์

[2] การหมักที่มีการใส่เชื้อ *S. cerevisae, L. delbruckii* และ *L. coryneformis*

[3] cassava flour (low-cyanide)

[4] cassava flour (medium-cyanide)

ตารางที่ 2.8 ผลการใช้มันสำปะหลังหมักและกากมันสำปะหลังหมักในอาหารสัตว์ปีก

Treatment	BW (g)	FI (g/h)	FCR	References
Ducks				อุษณีย์ภรณ์ และคณะ
Negative+phytase	3066.5[c]	-	2.26[a]	(2550)
10% FCM[1]	3337.8[a]	-	2.07[c]	
20% FCM	3164.5[b]	-	2.19[b]	
30% FCM	3067.8[c]	-	2.27[a]	
Positive control	3214.5[b]	-	2.16[b]	
Broilers				กัลยานี และ คณะ
Control	2291 [a]	3857 [a]	1.70 [b]	(2551)
5% FCM[2]	2023 [ab]	3813 [a]	1.88 [a]	
10% FCM	2081 [a]	3863 [a]	1.86 [a]	
15% FCM	1937 [b]	3687 [ab]	1.90 [a]	
20% FCM	1868 [b]	3542 [b]	1.90 [a]	
Broilers				ฤทัยรัตน์ (2553)
Control	2219 [ab]	4151 [ab]	1.91 [bc]	
4% FCP[3]	2240 [a]	4139 [ab]	1.88 [c]	
8% FCP	2201 [ab]	4183 [a]	1.94 [bc]	
12% FCP	2160 [ab]	4112 [b]	1.94 [bc]	
16% FCP	2116 [b]	4124 [ab]	1.99 [ab]	
20% FCP	1996 [c]	4042 [c]	2.07 [a]	

หมายเหตุ : [a - c] Means in the same column with different letters are significantly different ($p<0.05$)

[1] cassava meal fermented with *Aspergillus niger*

[2] cassava meal fermented with *Amylomyces rouxii*

[3] cassava pulp fermented with *Aspergillus oryzae*

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้มี 2 การทดลอง คือการทดลองที่ 1 ศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ในอาหารไก่ไข่ต่อการย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ ส่วนการทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ในอาหารไก่ไข่ต่อสมรรถนะการผลิต คุณภาพไข่ ปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดง การเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร กรดไขมันระเหยได้ และค่าทางชีวเคมีของโลหิต

3.1 การทดลองที่ 1 : การศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ในอาหารไก่ไข่ ต่อการย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ต่อการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในไก่ไข่ โดยทำการหมักกากมันสำปะหลังตามวิธีของ Thongkratok et al. (2010) ซึ่งได้รายงานว่าการหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 0.75% และหมักเป็นเวลา 4 วัน เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มโปรตีนของกากมันสำปะหลังได้ดีที่สุด

3.1.1 การหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อรา *A. oryzae*

1. การเตรียมสารละลายสปอร์เชื้อรา *A. oryzae*

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *A. oryzae* ในหลอดทดลองเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร Potato-Dextrose - Agar (PDA) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30ºC เป็นเวลา 4 วัน เพื่อนำไปใช้เป็นต้นเชื้อ จากนั้นเติมสารละลายน้ำเกลือ 0.85% ที่นึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121ºC เป็นเวลา 15 นาที ในปริมาณ 1 มิลลิลิตร ใช้เข็มเขี่ยเพื่อลอกเอาสปอร์ของเชื้อรา *A. oryzae* ออกจากอาหาร PDA เพื่อใช้ในการเตรียมหัวเชื้อรา *A. oryzae* ต่อไป (แสดงในภาพที่ 3.1)

2. การเตรียมหัวเชื้อรา *A. oryzae*

นำข้าวสาร 1,000 กรัม แช่ในน้ำสะอาดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121ºC เวลา 15 นาที และปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นนำสารละลายสปอร์เชื้อรา *A. oryzae* ที่เตรียมไว้มาเจือจางกับน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาณ 100 มิลลิลิตร และนำสารละลายที่ได้ไปคลุกให้ทั่วบนข้าวสารที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว กระจายให้เต็มถาดปิดด้วยกระดาษฟอยด์ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30ºC เป็นเวลา 4 วัน หลังจากนั้นนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 55ºC นำหัวเชื้อที่ได

บดละเอียดขนาดประมาณ 1 มิลลิเมตร และทำการตรวจนับสปอร์ของเชื้อราด้วยวิธีการนับจำนวนโคโลนี เพื่อหาความเข้มข้นของหัวเชื้อที่ใช้ในการหมัก (แสดงในภาพที่ 3.2)

3. การเตรียมเครื่องหมักกากมันสำปะหลัง

ในการทดลองครั้งนี้ได้มีการออกแบบเครื่องหมักกากมันสำปะหลังให้ถังหมักมีสเกลใหญ่ขึ้นคือ 100 กิโลกรัม โดยใช้เครื่องผสมอาหารชนิดถังนอนภายในเป็นสแตนเลส นำมาประยุกต์ดัดแปลงสำหรับใช้ในการนึ่งฆ่าเชื้อ และหมักกากมันสำปะหลัง โดยภายนอกตัวเครื่องหมักประกอบด้วยฮีตเตอร์ที่ติดอยู่ด้านล่างของตัวถัง เทอร์โมมิเตอร์วัดอุณหภูมิ และชุดควบคุมอุณหภูมิสำหรับควบคุมการให้ความร้อนของฮีตเตอร์ มีการติดฉนวนกันความร้อนรอบตัวถังเพื่อป้องกันการสูญเสียความร้อน และเพื่อความปลอดภัยของผู้ปฏิบัติงาน (ภาพที่ 3.3) ส่วนภายในถังหมักจะมีใบพัดหรือใบกวน (ภาพที่ 3.4) เพื่อใช้กวนกากมันสำปะหลังระหว่างการให้ความร้อนเพื่อให้ความร้อนกระจายได้ทั่วถึงกากมันสำปะหลัง และใช้สำหรับคลุกเคล้าเชื้อจุลินทรีย์กับกากมันสำปะหลังระหว่างกระบวนการหมัก ซึ่งก่อนทำการทดลองได้ทำการทดสอบเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเครื่องหมัก และพบว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100ºC เป็นเวลา 3 ชั่วโมง มีผลช่วยในการลดเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับกากมันสำปะหลังได้ดีที่สุด

ภาพที่ 3.1 ลักษณะของเชื้อรา *A. oryzae* และสารละลายสปอร์เชื้อรา *A. oryzae*

4. การเตรียมกากมันสำปะหลังหมัก

นำกากมันสำปะหลังสดจำนวน 100 กิโลกรัม ที่ได้จากโรงงานแป้งมันสำปะหลังมานึ่งด้วยเครื่องหมักกากมันสำปะหลังที่อุณหภูมิ 100ºC เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และทิ้งไว้ให้เย็นในถังหมัก (รายละเอียดเครื่องหมักกากมันสำปะหลังแสดงไว้ในหัวข้อ 3.1.1 ข้อ 3) จากนั้นผสมน้ำกลั่น (อัตราส่วนของกากมันสำปะหลังสด 1 กิโลกรัม เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร) กับยูเรีย 0.75% (คิดจาก

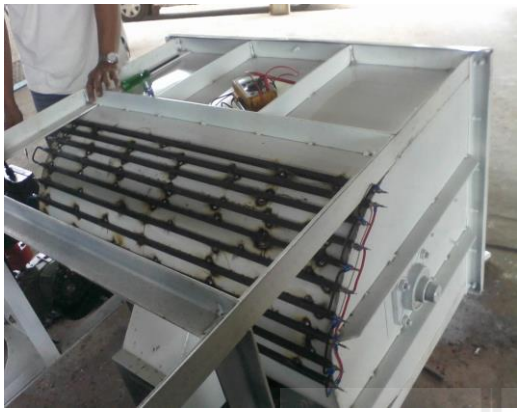
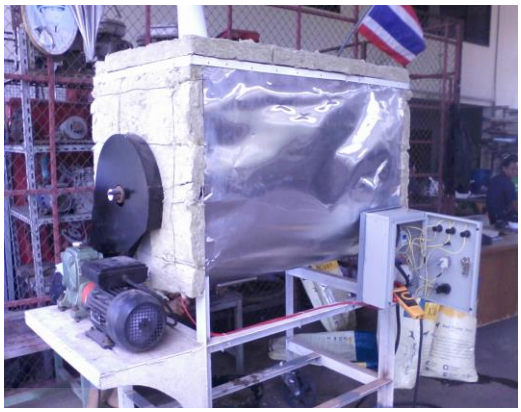
น้ำหนักกากมันสำปะหลังสด) เพื่อใช้เป็นแหล่งไนโตรเจน และเติมหัวเชื้อรา *A. oryzae* 1% (ความเข้มข้น 4.9×10^6 CFU) คลุกเคล้าในเข้ากันแล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน (แสดงในภาพที่ 3.5) ทำการกลับกากมันสำปะหลังหมักวันละครั้งเพื่อให้เชื้อรา *A. oryzae* เจริญบนกากมันได้อย่างทั่วถึง เมื่อครบเวลาการหมักนำกากมันสำปะหลังหมักที่ได้ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 55 - 60ºC

กากมันสำปะหลังหมักที่อบแห้งแล้วนำไปบดให้มีขนาดประมาณ 1 มิลลิเมตร และวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีก่อนนำไปใช้ประกอบสูตรอาหารทดลอง เช่น ความชื้น เถ้า โปรตีน ไขมัน เยื่อใย และวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนตามวิธีของ AOAC (2000)

ทำการศึกษาพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ที่แท้จริง (true metabolizable energy, TME) ตามวิธีของ Sibbald (1976) เพื่อนำค่าที่ได้เป็นข้อมูลสำหรับประกอบสูตรอาหารไก่ไข่ในการทดลอง โดยใช้ไก่ไข่พันธุ์อีซ่า บราวน์ จำนวน 10 ตัว ที่มีน้ำหนักใกล้เคียงกันแบ่งไก่ออกเป็น 2 กลุ่ม ๆ ละ 5 ซ้ำ ๆ ละ 1 ตัว โดยการแยกเลี้ยงไก่ไข่ในกรงขังเดี่ยวและทำการอดอาหารเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ไม่อดน้ำ) เพื่อให้ไก่ไข่ขับถ่ายอาหารที่เหลือในระบบทางเดินอาหารออกให้หมด เมื่อครบกำหนดการอดอาหาร 24 ชั่วโมง ให้ทำการอดอาหารในไก่กลุ่มแรกต่อจนเสร็จสิ้นการทดลอง ส่วนกลุ่มที่ 2 ทำการป้อน (force feeding) กากมันสำปะหลังหมักจำนวน 20 กรัม โดยการใช้ท่อพลาสติกปากกรวยสอดจากปากของไก่ลงสู่กระเพาะพัก (crop) แล้วเทวัตถุดิบอาหารลงไปยังปากกรวย และใช้แท่งพลาสติกกระทุ้งเพื่อช่วยดันวัตถุดิบ เมื่อครบระยะเวลา 24 ชั่วโมงหลังการ Force feeding ทำการเก็บมูลและบันทึกน้ำหนักมูลทั้ง 2 กลุ่มการทดลอง สเปรย์มูลของไก่ไข่แต่ละตัวด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 5% นำไปอบที่อุณหภูมิ 55ºC และบดมูลให้ละเอียดเพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าพลังงานรวมโดยใช้เครื่อง Bomb Calorimeter และทำการคำนวณหาค่าพลังงานการใช้ประโยชน์ได้ของกากมันสำปะหลังหมักเพื่อนำไปใช้เป็นข้อมูลการประกอบสูตรอาหารในการทดลอง โดยโภชนะของกากมันสำปะหลังหมักดังแสดงในตารางที่ 3.1

(ก) **(ข)**

ภาพที่ 3.2 ข้าวสารที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 121ºC เวลา 15 นาที (ก) หัวเชื้อรา *A. oryzae* ที่เจริญเติบโตในข้าวสาร (ข)

ภาพที่ 3.3 แสดงอุปกรณ์ภายนอกเครื่องหมักกากมันสำปะหลังประกอบด้วยฮีตเตอร์ เทอร์โมมิเตอร์ ชุดควบคุมอุณหภูมิ และฉนวนกันความร้อน

ภาพที่ 3.4 ลักษณะภายในเครื่องหมักกากมันสำปะหลังที่มีใบพัดหรือใบกวน

(ก) **(ข)**

ภาพที่ 3.5 แสดงกากมันสำปะหลังที่ผ่านการนึ่งด้วยเครื่องหมักที่อุณหภูมิ 100ºC เป็นเวลา 3 ชั่วโมง (ก) เครื่องหมักกากมันสำปะหลังโดยใช้ระยะเวลาในการหมัก 4 วัน (ข)

ตารางที่ 3.1 องค์ประกอบทางโภชนะของกากมันสำปะหลังหมัก (as fed basis)

Component	%
Dry matter, %	95.00
Crude protein, %	13.25
True protein, %	12.37
Ether extract, %	0.15
Crude fiber, %	10.66
Ash, %	1.59
TME, kcal/kg	2,228
Cyanide, mg/kg	1.00
Amino acid (mg/100 g)	
Alanine	84.32
Arginine	<5.00
Aspartic acid	56.86
Cystine	<5.00
Glutamic acid	234.31
Glycine	81.83
Histidine	178.53
Isoleucine	178.77
Leucine	227.56
Lysine	501.28
Methionine	<5.00
Phenylalanine	239.60
Proline	53.39
Serine	32.28
Threonine	30.50
Tryptophan	19.54
Tyrosine	134.96
Valine	150.30

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.1.2 สัตว์ทดลอง

ใช้ไก่ไข่พันธุ์อีซ่า บราวน์ อายุ 46 สัปดาห์ จำนวน 48 ตัว เลี้ยงในกรงขังเดี่ยวเป็นระยะเวลา 4 วัน เพื่อปรับไก่ให้ชินกับสภาพแวดล้อมก่อนเริ่มการทดลอง จากนั้นทำการแบ่งไก่ออกเป็น 6 กลุ่ม ๆ ละ 8 ซ้ำ ๆ ละ 1 ตัว ระยะเวลาในการทดลอง 10 วัน ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) โดยไก่ในแต่ละหน่วยการทดลองมีน้ำหนักตัว และอัตราการให้ไข่ใกล้เคียงกัน มีการให้อาหารและน้ำแบบเต็มที่ตลอดการทดลอง (*ad libitum*)

3.1.3 อาหารทดลอง

ทดสอบการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ที่ระดับต่าง ๆ ในสูตรอาหาร คือ 0, 8, 16, 24, 32 และ 40% ตามลำดับ สูตรอาหารทดลองทั้งหมดคำนวณให้มีระดับของโปรตีน พลังงานเท่ากัน และมีองค์ประกอบของโภชนะเพียงพอกับความต้องการของไก่ไข่ในระยะให้ไข่ ตามคำแนะนำของ NRC (1994) ส่วนประกอบของสูตรอาหารทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 3.2

อาหารทดลองที่ใช้ในการทดลองแบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม ประกอบด้วย

กลุ่มที่ 1 : สูตรควบคุม (control)
กลุ่มที่ 2 : เสริมกากมันสำปะหลังหมัก 8%
กลุ่มที่ 3 : เสริมกากมันสำปะหลังหมัก 16%
กลุ่มที่ 4 : เสริมกากมันสำปะหลังหมัก 24%
กลุ่มที่ 5 : เสริมกากมันสำปะหลังหมัก 32%
กลุ่มที่ 6 : เสริมกากมันสำปะหลังหมัก 40%

3.1.4 การเก็บข้อมูลเพื่อศึกษาการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ

ทำการเก็บมูลทั้งหมด (Total collection) ที่ไก่ไข่ขับถ่ายออกมาวันละ 1 ครั้งเวลา 10.00 น.ในช่วง 4 วันสุดท้ายของการทดลอง โดยนำถาดพลาสติกรองไว้ใต้กรงเพื่อเก็บมูลเป็นเวลา 24 ชั่วโมง มูลที่เก็บได้ในแต่ละวันจะสเปรย์ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 5% เพื่อป้องกันการสูญเสียไนโตรเจน จากนั้นนำตัวอย่างมูลไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 55ºC บดใส่ถุงพลาสติก และเก็บไว้เพื่อรอการวิเคราะห์ทางเคมี นอกจากนี้มีการบันทึกข้อมูลต่าง ๆ คือ น้ำหนักตัวของไก่ไข่ก่อนและหลังการทดลอง ปริมาณอาหารที่กิน น้ำหนักมูลในช่วง 4 วันสุดท้ายของการทดลอง และมีการบันทึกทุกครั้งที่มีไก่ตาย

3.1.5 การวิเคราะห์ทางเคมี

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสูตรอาหารทดลอง และวิเคราะห์หาโภชนะในมูลไก่ไข่ ได้แก่ ความชื้น เถ้า ปริมาณไนโตรเจน (AOAC, 2000) เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับต่าง ๆ ต่อการย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในไก่ไข่ ซึ่งมีสิ่งที่ต้องการศึกษา ดังนี้

1) การย่อยได้ของวัตถุแห้ง (dry matter digestibility)

$$= \frac{(\text{น้ำหนักอาหารที่กิน} - \text{น้ำหนักมูล})}{\text{น้ำหนักอาหารที่กิน}} \times 100$$

2) การย่อยได้ของโภชนะ (nutrient digestibility)

$$= \frac{(\text{น้ำหนักอาหาร} \times \%\text{โภชนะในอาหาร}) - (\text{น้ำหนักมูล} \times \%\text{โภชนะในมูล})}{(\text{น้ำหนักอาหาร} \times \%\text{โภชนะในอาหาร})} \times 100$$

3.1.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้นำไปวิเคราะห์ทางสถิติหาค่าความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Analysis of variance (ANOVA) ด้วยแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) วิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยในแต่ละปัจจัยการทดลองด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DUNCAN) และวิเคราะห์แนวโน้มของการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับต่าง ๆ ด้วยวิธี orthogonal polynomials โดยใช้โปรแกรมสถิติสำเร็จรูป SAS (1996)

3.2 การทดลองที่ 2 : การศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ในอาหารไก่ไข่ ต่อสมรรถนะการผลิต คุณภาพไข่ ปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดง การเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร กรดไขมันระเหยได้ และค่าทางชีวเคมีของโลหิต

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับต่าง ๆ ในสูตรอาหารไก่ไข่ต่อสมรรถนะการผลิต คุณภาพไข่ ปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดง และค่าทางชีวเคมีของโลหิต นอกจากนี้เยื่อใยในกากมันสำปะหลังหมักอาจถูกใช้ประโยชน์โดยจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารส่วนท้าย ซึ่งอาจทำให้จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์สามารถเจริญเติบโต ผลิตกรดไขมันระเหยได้ และส่งผลในการช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันในไก่ไข่ ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการวิเคราะห์เกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของประชากรจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารส่วนท้าย กรดไขมันระเหยได้ และการตอบสนองภูมิคุ้มกันรวมในไก่ไข่

3.2.1 การเตรียมกากมันสำปะหลังหมัก

มีวิธีการเตรียมเช่นเดียวกับหัวข้อ 3.1.1

3.2.2 สัตว์ทดลอง

ใช้ไก่ไข่พันธุ์อีซ่า บราวน์ อายุ 54 สัปดาห์ จำนวน 192 ตัว และทำการแบ่งไก่ไข่ออกเป็น4 กลุ่ม ๆ ละ 4 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำมีไก่ไข่ 12 ตัว โดยเลี้ยงไก่ไข่ในกรงตับซึ่งในแต่ละกรงมีไก่

จำนวน 3 ตัว ใช้ระยะเวลาในการทดลอง 8 สัปดาห์ ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ในการทดลองมีการให้อาหาร และน้ำแบบเต็มที่ (*ad libitum*)

3.2.3 อาหารทดลอง

การใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ที่ระดับ 0, 16, 24 และ 32 % ในสูตรอาหาร เนื่องจากผลของการทดลองที่ 1 พบว่าการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 0 - 32% ไม่มีผลกระทบต่อการย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ ดังนั้นจึงปรับเปลี่ยนกลุ่มการทดลองดังที่กล่าวไว้ข้างต้น โดยอาหารทดลองคำนวณให้มีระดับพลังงาน โปรตีนเท่ากัน และมีองค์ประกอบของโภชนะเพียงพอกับความต้องการของไก่ไข่ในระยะให้ไข่ ตามคำแนะนำของ NRC (1994) ส่วนประกอบและองค์ประกอบของโภชนะในอาหารทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 3.2

อาหารทดลองแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ประกอบด้วย

กลุ่มที่ 1 : สูตรควบคุม (Control)

กลุ่มที่ 2 : กากมันสำปะหลังหมัก 16%

กลุ่มที่ 3 : กากมันสำปะหลังหมัก 24%

กลุ่มที่ 4 : กากมันสำปะหลังหมัก 32%

3.2.4 สิ่งที่ต้องการศึกษา

เพื่อศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับต่าง ๆ ในอาหารไก่ไข่ต่อสมรรถนะการผลิต คุณภาพไข่ ปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดง การเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม การผลิตกรดไขมันระเหยได้ และค่าทางชีวเคมีของโลหิตได้แก่ ปริมาณเอนไซม์ Alanine aminotransferase (ALT) เอนไซม์ Aspartate aminotransferase (AST) การวิเคราะห์ยูเรียไนโตรเจนในเลือด (blood urea nitrogen) ปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือด การตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันด้วยการวิเคราะห์ปริมาณอิมมูโนโกลบูลิน (total Immunoglobulin) โดยมีสิ่งที่ต้องการศึกษาดังนี้

1. การศึกษาสมรรถนะการผลิตไข่ (egg performance)

1.1 ทำการบันทึกน้ำหนักตัวไก่ไข่ก่อน และสิ้นสุดงานทดลอง บันทึกปริมาณอาหารที่กินทุกสัปดาห์ เพื่อคำนวณหาประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร และทำการบันทึกทุกครั้งที่มีไก่ตาย

1) ปริมาณอาหารที่กินต่อตัว (feed intake, FI)

$$= \frac{\text{ปริมาณอาหารที่กินในช่วงการทดลอง}}{\text{จำนวนไก่ทั้งหมด}}$$

2) ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร (feed conversion ratio, FCR)

$$= \frac{\text{ปริมาณอาหารที่กิน (กรัม)}}{\text{น้ำหนักไข่ที่ผลิตได้ (กรัม)}}$$

1.2 บันทึกผลผลิตไข่ไก่ในแต่ละวันเพื่อใช้ในการคำนวณเปอร์เซนต์ไข่ ชั่งน้ำหนักไข่ไก่ทุกวันเพื่อใช้ในการคำนวณน้ำหนักไข่เฉลี่ยต่อฟอง มวลไข่ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน

1) ผลผลิตไข่ (hen day egg production) $= \frac{\text{จำนวนไข่ในช่วงการทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนวัน} \times \text{จำนวนไก่}}$

2) น้ำหนักไข่เฉลี่ยต่อฟอง (egg weight) $= \frac{\text{น้ำหนักไข่ทั้งหมด}}{\text{จำนวนไข่}}$

3) มวลไข่ (egg mass) $= \frac{\text{ผลผลิตไข่} \times \text{น้ำหนักไข่เฉลี่ย}}{100}$

4) ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio) $= \frac{\text{น้ำหนักไข่ที่ผลิตได้ (กรัม)}}{\text{ปริมาณโปรตีนที่กิน (กรัม)}}$

2. การศึกษาคุณภาพไข่ไก่ (egg quality)

ทำการวิเคราะห์คุณภาพไข่เดือนละ 2 ครั้ง ทุกสัปดาห์ที่ 2 และ 4 ของแต่ละเดือน โดยการสุ่มไข่ไก่ในสัปดาห์นั้นจำนวน 4 ฟองต่อซ้ำ เพื่อวัดคุณภาพไข่ ได้แก่ น้ำหนักเปลือกไข่ (egg shell weight) ความหนาของเปลือกไข่ (egg shell thickness) ความสูงของไข่ขาวนำมาคำนวณคุณภาพของไข่ขาวคือค่าฮอร์ยูนิต (haugh unit) น้ำหนักไข่ขาว (albumin weight) น้ำหนักไข่แดง (yolk weight) และความเข้มสีไข่แดง (yolk color) โดยเทียบกับพัดสีโรช (roche color fan)

คุณภาพไข่ขาวคำนวณจากค่า Haugh unit

$$= 100 \log (H + 7.57 - 1.7W^{0.37})$$

เมื่อ H = ค่าเฉลี่ยความสูงไข่ขาว (มิลลิเมตร) ทำการวัด 3 จุด ที่จุดกึ่งกลางระหว่างไข่ขาวกับขอบไข่แดง

W = น้ำหนักไข่ (กรัม)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 3.2 ส่วนประกอบของสูตรอาหารไก่ไข่ที่ใช้ในการทดลอง

		Fermented cassava pulp (%)				
Ingredients	**Control**	**8%**	**16%**	**24%**	**32%**	**40%**
Corn	52.00	44.00	36.00	28.00	20.00	12.00
Meat meal (61% CP)	7.57	7.57	7.57	7.57	7.57	7.57
Soybean meal (44% CP)	9.02	7.86	7.11	6.18	5.38	4.55
Full-fat soybean	11.70	11.70	11.70	11.70	11.70	11.70
Rice bran	9.95	9.70	8.94	8.38	7.66	7.00
Rice bran oil	0.10	1.48	2.93	4.36	5.81	7.25
Fermented cassava pulp	0.00	8.00	16.00	24.00	32.00	40.00
Salt	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32
DL-methionine	0.14	0.17	0.20	0.24	0.27	0.30
Calcium carbonate	8.65	8.61	8.59	8.56	8.55	8.52
Dicalcium phosphate	0.30	0.34	0.39	0.44	0.49	0.54
Premix[1]	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Calculated composition (%)						
ME (kcal/kg)	2850	2850	2850	2850	2850	2850
Calcium	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Available phosphorus	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45
Lysine	0.89	0.86	0.83	0.80	0.78	0.75
Methionine	0.42	0.43	0.44	0.46	0.48	0.49
Methionine + Cystine	0.63	0.63	0.62	0.63	0.63	0.63
Analyzed composition (%)						
Dry matter	91.66	91.96	92.37	92.68	93.23	93.35
Crude protein	17.22	16.99	17.03	17.01	16.98	17.03
Crude fiber	3.51	4.08	4.61	5.16	5.69	6.24
Ash	12.69	15.46	13.94	12.71	13.23	12.36

หมายเหตุ : [1] Premix (1 Kg) = vitamin A, 15,000 IU; vitamin D_3, 3,000 IU; vitamin E, 25 IU; vitamin K_3, 5 mg; vitamin B_1, 2 mg; vitamin B_2, 7 mg; vitamin B_6, 4 mg; vitamin B_{12}, 25 mg; pantothenic acid, 11.04 mg; nicotinic acid, 35 mg; folic acid, 1 mg; biotin, 15 µg; choline chloride, 250 mg; Cu, 1.6 mg; Mn, 60 mg; Zn, 45 mg; Fe, 80 mg; I, 0.4 mg; Se, 0.15 mg

3. การศึกษาปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดง

นำไข่ไก่ที่ได้จากการศึกษาคุณภาพไข่ (ทำการวิเคราะห์เดือนละ 1 ครั้ง ในทุกสัปดาห์ที่ 4 ของแต่ละเดือน) มาวัดปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดง โดยการแยกไข่แดงกับไข่ขาวออกจากกัน นำไข่แดงในแต่ละซ้ำมาตีรวมกัน และเก็บที่อุณหภูมิ -20ºC เพื่อรอวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอลตามวิธีที่ดัดแปรงมาจาก Rowe, Macedo, Visentainer, Souza and Matsu-shita (1999)

4. การศึกษาค่าทางชีวเคมีของของโลหิตในไก่ไข่

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (ระยะเวลา 8 สัปดาห์) ทำการสุ่มไก่ทุกกลุ่มการทดลองซ้ำละ 2 ตัว เพื่อเจาะเลือดบริเวณใต้ปีก (wing vein) โดยใช้เข็มฉีดยาเบอร์ 23 เก็บเลือดในหลอดเก็บตัวอย่างเลือดที่ไม่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด แล้วนำตัวอย่างไปเก็บในกระติกน้ำแข็งที่มีอุณหภูมิ 4ºC เพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าทางชีวเคมีของโลหิต ต่อไป

1) นำตัวอย่างเลือดไปวิเคราะห์ ค่าเอนไซม์ alanine aminotransferase (ALT) เอนไซม์ aspartate aminotransferase (AST) ปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือด (blood urea nitrogen) และปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือด โดยใช้เครื่อง Automatic Clinical Chemistry (A15 Analyzer)

2) การเก็บซีรัม นำตัวอย่างเลือดมาตั้งทิ้งไว้ 1 - 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4ºC จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็ว 3,000 rpm เป็นเวลา 15 นาที แล้วเก็บส่วนซีรัม เพื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณอิมมูโนโกลบูลิน (total Immunoglobulin g) โดยใช้ชุดทดสอบ Total protein kit (Micro Lowry, Peterson's Modification)

5. การศึกษาประชากรจุลินทรีย์และปริมาณกรดไขมันระเหยได้ใน Digesta บริเวณลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัมของไก่ไข่

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (ระยะเวลา 8 สัปดาห์) ทำการสุ่มไก่ทุกกลุ่มการทดลองซ้ำละ 1 ตัว โดยไม่ต้องอดอาหารจากนั้นทำให้ไก่ไข่สลบ และทำการเก็บ digesta บริเวณลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัมเพื่อนำไปวัดค่าต่าง ๆ ได้แก่ ประชากรจุลินทรีย์ (*Bifidobacterium, Lactobacillus spp*. และ *E. coli*) ปริมาณกรดไขมันระเหยได้ ได้แก่ กรดอะซิติก (acetic acid) กรดโพรพิโอนิก (propionic acid) และกรดบิวทีริก (butyric acid)

3.2.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้นำไปวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Analysis of variance (ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) วิเคราะห์เพื่อเปรียบเทียบค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละปัจจัยด้วยวิธี DUNCAN และวิเคราะห์หาแนวโน้มของการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับต่าง ๆ ด้วยวิธี Orthogonal polynomials โดยใช้โปรแกรมสถิติสำเร็จรูป SAS (1996)

3.3 สถานที่ทำการทดลอง

1. ห้องปฏิบัติการโภชนศาสตร์สัตว์อาคารเครื่องมือ 3 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2. งานสัตว์ปีก ฟาร์มมหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.4 ระยะเวลาทำการทดลอง

การทดลองที่ 1 ตั้งแต่ช่วงเดือนพฤษภาคม ถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2555

การทดลองที่ 2 ตั้งแต่ช่วงเดือนกรกฎาคม ถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2555

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 4
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อรา *A. oryzae* สามารถปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะให้ดีขึ้นได้ โดยองค์ประกอบทางโภชนะของกากมันสำปะหลังมีปริมาณโปรตีน 1.98% เยื่อใย 13.59% และพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้เท่ากับ 2,763 kcal/kg เมื่อนำกากมันสำปะหลังมาผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* พบว่าองค์ประกอบทางโภชนะของกากมันสำปะหลังหมักมีปริมาณโปรตีนรวม โปรตีนแท้ เยื่อใย และพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้เท่ากับ 13.25%, 12.37%, 10.66% และ 2,228 kcal/kg ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่ากากมันสำปะหลังหมักมีปริมาณโปรตีนสูงขึ้น 11.27% เมื่อเปรียบเทียบกับกากมันสำปะหลังปกติ จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน พบว่ากากมันสำปะหลังหมักมีปริมาณกรดอะมิโนเพิ่มขึ้น เช่น ไลซีน (lysine) ทรีโอนีน (threonine) ทริปโตเฟน (tryptophan) ฟีนิลแอลานีน (phenylalanine) ลิวซีน (leucine) ไอโซลิวซีน (isoleucine) ฮิสทิดีน (histidine) วาลีน (valine) และกรดกลูตามิก (glutamic acid) จาก 226.22, น้อยกว่า 5.00, 6.76, 118.19, 106.32, 84.61, 58.99, 87.11 และ 98.09 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม เพิ่มเป็น 501.28, 30.50, 19.54, 239.60, 227.56, 178.77, 178.53, 150.30 และ 234.31 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ แต่ปริมาณของเมทไธโอนีน (methionine) ทั้งในกากมันสำปะหลังปกติ และกากมันสำปะหลังหมักยังมีปริมาณที่น้อยมากดังแสดงไว้ในตารางที่ 4.1 นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบทางโภชนะของข้าวโพด กากมันสำปะหลัง และกากมันสำปะหลังหมัก พบว่ากากมันสำปะหลังหมักมีปริมาณโปรตีน และกรดอะมิโนไลซีนสูงสุด อย่างไรก็ตามกากมันสำปะหลังหมักยังมีกรดอะมิโนบางตัวที่ต่ำกว่าข้าวโพด เช่น อาร์จินีน (arginine) ซิสทีน (cysteine) และเมทไธโอนีน (methionine) เป็นต้น แต่เมื่อพิจารณาองค์ประกอบทางโภชนะต่าง ๆ ชี้ให้เห็นว่ากากมันสำปะหลังหมักมีคุณค่าทางโภชนะในการนำไปใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ได้

กากมันสำปะหลังหมักมีคุณค่าทางโภชนะที่ดีขึ้นเนื่องจากเชื้อรา *A. oryzae* สามารถหลั่งเอนไซม์ต่าง ๆ เช่น แอลฟาอะไมเลส กลูโคอะไมเลส โปรติเอส และเซลลูเลส (Francis et al., 2002; Chutmanop et al., 2008; Begum et al., 2009; Zambare, 2010) เพื่อย่อยสลายโครงสร้างของกากมันสำปะหลังในระหว่างการหมัก ซึ่งเชื้อรา *A. oryzae* จะใช้แป้งหรือคาร์โบไฮเดรตหรือส่วนของเยื่อใยที่มีอยู่ในกากมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการสร้างพลังงานให้กับเซลล์จุลินทรีย์ เพื่อให้จุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโต และเพิ่มจำนวนได้มากขึ้น เมื่อจุลินทรีย์ซึ่งเป็นแหล่งของโปรตีนเพิ่มจำนวนจึงส่งผลให้กากมันสำปะหลังหมักมีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นด้วย

นอกจากนี้กระบวนการหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ยังช่วยลดปริมาณเยื่อใย 2.93% เนื่องจากความสามารถในการหลั่งเอนไซม์ของ *A. oryzae* ที่กล่าวไว้ข้างต้น ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Oboh et al. (2002) ที่รายงานว่าการหลั่งเอนไซม์ของเชื้อรา *A. oryzae* เพื่อย่อยสลายเซลลูโลสในกากมันสำปะหลังดีกว่าเชื้อ *S. cerevisiae* และ *C. utilis* จึงช่วยลดปริมาณเยื่อใยได้ดีกว่า จากการหมักผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังพบว่าสามารถลดปริมาณเยื่อใยได้เนื่องจากจุลินทรีย์ใช้คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับสร้างพลังงานให้กับเซลล์ (Oboh, 2006; Oboh and Elusiyan, 2007; Ezekiel et al., 2010)

ผลิตภัณฑ์จากมันสำปะหลังที่มีปริมาณโปรตีนต่ำ เมื่อนำมาผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ พบว่ามีปริมาณโปรตีนสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับมันสำปะหลังปกติที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการหมัก (ฤทัยรัตน์ โต้งกระโทก, 2553; อนันตภัทร และ วิชัย, 2546; Oboh, 2006; Oboh and Elusiyan 2007; Boonnop et al., 2009; Ezekiel et al., 2010) แต่อย่างไรก็ตามปริมาณโปรตีนที่เปลี่ยนแปลงไปนั้นอาจไม่ใช่โปรตีนแท้ทั้งหมด เพราะในกระบวนการหมักมีการใช้ยูเรียเพื่อเป็นแหล่งไนโตรเจนให้กับเชื้อรา *A. oryzae* ซึ่งยูเรียมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบถึง 46% เมื่อคิดเป็นโปรตีนจะได้เท่ากับ 287.5% ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนแท้ในกากมันสำปะหลังหมักด้วย โดยทำการวิเคราะห์จากแอมโมเนียคัลไนโตรเจน (ammoniacal nitrogen) เพื่อใช้คำนวณหาปริมาณโปรตีนแท้ ซึ่งได้ค่าโปรตีนแท้เท่ากับ 12.37% จากปริมาณโปรตีนรวม 13.25% และส่วนที่เหลืออีก 0.88% อาจเป็นสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (non protein nitrogen, NPN) ดังนั้นข้อแนะนำก่อนการนำกากมันสำปะหลังหมักไปใช้ควรทำการตรวจวัดปริมาณโปรตีนแท้ด้วย เนื่องจากสามารถใช้เป็นค่าที่บ่งชี้ถึงปริมาณโปรตีนที่สัตว์จะนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างแท้จริง

นอกจากนี้ข้อควรระวังในการใช้กากมันสำปะหลังหมักคือควรตรวจสอบปริมาณยูเรียตกค้างก่อน ยูเรียไม่ควรนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์กระเพาะเดี่ยว เนื่องจากเมื่อยูเรียถูกย่อยสลายจะปลดปล่อยแอมโมเนียออกมาซึ่งเป็นพิษต่อสัตว์ โดยข้อแนะนำสำหรับปริมาณยูเรียที่มีในอาหารสัตว์ปีกไม่ควรเกิน 0.5% หรือ 0.3 กรัมต่อน้ำหนักของสัตว์ 1 กิโลกรัม ศรีสุดา ศิริเหล่าไพศาล, เยาวมาลย์ ค้าเจริญ และบัณฑิตย์ เต็งเจริญกุล (2554) รายงานว่าอาหารที่เสริมเมลามีน และยูเรียฟอมาดีไฮด์ในระดับที่มากกว่า 0.75% จะมีผลกระทบต่อสมรรถนะของไก่ไข่ ทั้งนี้ผลการทดลองในการหมักกากมันสำปะหลังพบว่ามีปริมาณ NPN เหลืออยู่ซึ่งอาจเป็นยูเรีย โดยมีค่าประมาณ 0.14% แต่อย่างไรก็ตามเมื่อนำกากมันสำปะหลังหมักมาใช้ประกอบสูตรอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 16, 24 และ 32% พบว่าจะมีปริมาณยูเรียในอาหารเท่ากับ 0.02, 0.03 และ 0.04% ตามลำดับ ซึ่งอาหารแต่ละสูตรนั้นมีปริมาณยูเรียน้อยมาก และอยู่ในระดับที่ปลอดภัยต่อสัตว์

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางโภชนะของข้าวโพด กากมันสำปะหลัง และกากมันสำปะหลังหมัก

Component	Corn[1]	Cassava pulp	Fermented cassava pulp
Dry matter, %	89.00	93.22	95.00
Crude protein, %	7.00	1.98	13.25
True protein, %	-	0.98	12.37
Crude fiber, %	2.20	13.59	10.66
Ash, %	1.20	2.83	1.59
TME, kcal/kg	3350	2763	2228
Cyanide, mg/kg	-	3.26	1.00
Amino acid (mg/100 g)			
Alanine	30.00	24.91	84.32
Arginine	28.00	<5.00	<5.00
Aspartic acid	4.00	15.76	56.86
Cystine	12.00	<5.00	<5.00
Glutamic acid	450.00	98.09	234.31
Glycine	33.00	42.48	81.83
Histidine	17.00	58.99	178.53
Isoleucine	21.00	84.61	178.77
Leucine	77.00	106.32	227.56
Lysine	17.00	226.22	501.28
Methionine	13.00	<5.00	<5.00
Phenylalanine	58.00	118.19	239.60
Proline	7.00	25.40	53.39
Serine	37.00	<5.00	32.28
Threonine	20.00	<5.00	30.50
Tryptophan	4.00	6.76	19.54
Tyrosine	30.00	71.12	134.96
Valine	22.00	87.11	150.30

หมายเหตุ : [1] NRC, 1994

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

การหมักกากมันสำปะหลังยังสามารถลดปริมาณไซยาไนด์ได้ จาก 3.26 เหลือ 1.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม องค์การอาหารและเกษตร และองค์การอนามัยโลกแนะนำว่าไม่ควรมีปริมาณไซยาไนด์เกิน 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของอาหารสัตว์ โดยไซยาไนด์เป็นสารพิษที่มีการย่อยสลายตัวได้ง่าย เช่น การตากแดด การได้รับความร้อน หรือแม้แต่การหมักก็ช่วยย่อยสลายไซยาไนด์ได้ ซึ่งการลดลงของไซยาไนด์ในผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังหมักบางส่วนเกิดจากการทำงานของจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักหรือการย่อยสลายโดยเอนไซม์ที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้น (Oboh, 2006; Oboh and Elusiyan, 2007; Boonnop et al., 2009; Adamafio et al., 2010) จึงทำให้ความเป็นพิษลดน้อยลง อีกทั้งก่อนกระบวนการหมักมีการนึ่งกากมันสำปะหลังด้วยความร้อนซึ่งช่วยให้ไซยาไนด์ย่อยสลายลงได้ เมื่อปริมาณไซยาไนด์ในวัตถุดิบอาหารลดลงจะส่งผลดีแก่สัตว์ เพราะว่าถ้าสัตว์ได้รับสารพิษในปริมาณมากไซยาไนด์ที่ถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายจะไปรบกวนกระบวนการขนส่งอิเลคตรอน (electron transport system) สัตว์จึงไม่สามารถสร้าง ATP (adenosine triphosphate) ได้ ทำให้เซลล์ขาดพลังงาน และตายลงในที่สุด (สกล คำไข่, 2547)

4.1 การทดลองที่ 1 : ผลการศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ในอาหารไก่ไข่ ต่อการย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ

ผลของการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในอาหารไก่ไข่ที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 0, 8, 16, 24, 32 และ 40% (แสดงในตารางที่ 4.2) พบว่าการย่อยได้ของสิ่งแห้งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 73.24, 70.95, 72.07, 71.11, 70.85 และ 61.03% ตามลำดับ การย่อยได้ของเถ้ามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 64.20, 63.22, 65.41, 60.93, 61.51 และ 53.27% ตามลำดับ ซึ่งไก่ไข่ที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักในระดับที่ 0-32% ไม่มีผลกระทบต่อการย่อยได้ของสิ่งแห้ง และเถ้า ($p>0.05$) แต่การใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 40% ในสูตรอาหารมีผลทำให้การย่อยได้ของสิ่งแห้ง และเถ้าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนค่าการย่อยได้ของสารอินทรีย์ลดลงแตกต่างจากกลุ่มควบคุม เมื่อใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 32-40% ในสูตรอาหารไก่ไข่ ($p<0.05$) นอกจากนี้การใช้ประโยชน์ของไนโตรเจนมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 62.82, 61.32, 59.84, 59.27, 58.49 และ 46.25% ตามลำดับ โดยการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 8-32% ในสูตรอาหารไม่มีผลกระทบต่อการใช้ประโยชน์ได้ของไนโตรเจนเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p>0.05$) แต่อย่างไรก็ตามการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 40% ในสูตรอาหาร พบว่าการใช้ประโยชน์ได้ของไนโตรเจนต่ำกว่าไก่ไข่ในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

จากผลการศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังหมักต่อการย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในอาหารไก่ไข่ พบว่าสามารถใช้กากมันสำปะหลังหมักในสูตรอาหารได้ถึงระดับ 32% โดยไม่มีผลกระทบต่อการย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ ($p>0.05$) เนื่องจากกากมัน

สำปะหลังหมักมีคุณค่าทางโภชนะที่ดีขึ้น คือมีปริมาณโปรตีนสูงขึ้น และเยื่อใยลดลง โดยกากมันสำปะหลังหมักสามารถใช้ในอาหารไก่ไข่ได้มากกว่ากากมันสำปะหลังปกติ เนื่องจากแป้งในกากมันสำปะหลังมีลักษณะเป็นแป้งอ่อนสัตว์สามารถย่อยได้เร็ว ซึ่งส่งผลดีต่อตัวสัตว์เพราะสัตว์จะเกิดความเครียดจากการย่อยอาหารน้อยลง อีกทั้งในกระบวนการหมักยังมีการนึ่งกากมันสำปะหลังเพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ (นันทกร บุญเกิด และคณะ, 2543) โดยความร้อนจากการฆ่าเชื้อจะช่วยให้แป้งในกากมันสำปะหลังสุก สัตว์จึงสามารถใช้ประโยชน์จากแป้งของกากมันสำปะหลังได้ง่ายขึ้น อีกทั้งในกระบวนการหมักเชื้อรา *A. oryzae* ยังสามารถผลิตเอนไซม์ออกมาเพื่อย่อยสลายแป้ง และเยื่อใยในกากมันสำปะหลังหมัก ซึ่งจะทำให้โมเลกุลของแป้งมีขนาดสั้นลง ดังนั้นแป้งที่มีอยู่ในกากมันสำปะหลังหมักจึงเป็นแป้งที่สุก และมีโมเลกุลสั้นจึงทำให้กากมันสำปะหลังหมักสามารถย่อยได้ดีกว่ากากสำปะหลังมันปกติ โดย ฤทัยรัตน์ โต้งกระโทก (2553) รายงานว่ากากมันสำปะหลังหมักสามารถใช้ในสูตรอาหารไก่เนื้อได้ (16%) มากกว่ากากมันปกติ โดยไม่มีผลกระทบต่อการย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ นอกจากนี้สอดคล้องกับการทดลองของ วิรชัย พลโรม และคณะ (2536) รายงานว่ากากมันสำปะหลังหมักจากการผลิตแอลกอฮอล์สามารถใช้ได้ถึงระดับ 30% ในสูตรอาหารไก่ไข่ เนื่องจากในกากมันสำปะหลังหมักมีปริมาณโปรตีนสูง (12.59%) สามารถทดแทนโปรตีนในข้าวโพดได้

อย่างไรก็ตามผลการทดลองการใช้กากมันสำปะหลังหมักในสูตรอาหารที่ระดับสูงขึ้น (40%) พบว่ามีผลทำให้การย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะลงลดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ทั้งนี้เนื่องมาจากกากมันสำปะหลังหมักยังมีปริมาณเยื่อใยที่สูง (10.66%) จากผลการวิเคราะห์อาหารพบว่าอาหารสูตรที่มีกากมันสำปะหลังหมัก 40% มีปริมาณเยื่อใยเท่ากับ 6.24% ซึ่งปริมาณเยื่อใยในสูตรอาหารสัตว์กระเพาะเดี่ยวไม่ควรมีเกิน 5% Bowland (1972) รายงานว่าการเลี้ยงสุกรด้วยอาหารที่มีระดับเยื่อใยเกิน 5% ส่งผลให้การย่อยได้ของโภชนะลดลง เนื่องจากเยื่อใยในอาหารสามารถดูดน้ำ จึงเกิดการพองตัวเหมือนฟองน้ำ ทำให้อาหารไม่มีความหนืด และเคลื่อนที่ผ่านลำไส้ได้เร็ว ดังนั้นปริมาณเยื่อใยที่สูงจะส่งผลให้การย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะลดลง และยังขัดขวางการย่อย การดูดซึมของโภชนะตัวอื่นด้วย (อุทัย คันโธ, 2529; ทวีศักดิ์ นิยมบัณฑิต, อรัญ หันพงศ์กิตติกูล และสมเกียรติ ทองรักษ์, 2543; Jimenez-Moreno, Gonzalez-Alvarado, Gonzalez-Sanchez, Lazaro and Mateos, 2010)

ตารางที่ 4.2 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ต่อการย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ

		Fermentation cassava pulp						
	Control	**8%**	**16%**	**24%**	**32%**	**40%**	**SEM[1]**	**Trend[2]**
Digestibility (%)								
Dry matter	73.24[a]	70.95[a]	72.07[a]	71.11[a]	70.85[a]	61.03[b]	1.02	NS[3]
Ash	64.20[a]	63.22[a]	65.41[a]	60.93[a]	61.51[a]	53.27[b]	1.31	NS
Organic matter	74.69[a]	72.93[ab]	72.31[ab]	73.53[ab]	70.68[b]	66.03[c]	1.00	NS
Retention (%)								
Nitrogen	62.82[a]	61.32[a]	59.84[a]	59.27[a]	58.49[a]	46.25[b]	1.38	NS

หมายเหตุ : [a - c] Means in the same row with different letters are significantly different ($p<0.05$)

[1] Standard error of mean

[2] Refer to polynomial trend analysis

[3] Not significant

4.2 การทดลองที่ 2 : ผลการศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ต่อสมรรถนะการผลิต และคุณภาพไข่

4.2.1 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารต่อสมรรถนะการผลิตของไก่ไข่

ผลการศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ในสูตรอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 0, 16, 24 และ 32% ต่อปริมาณอาหารที่กิน (กรัม/ตัว/วัน) ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร ผลผลิตไข่ (%) น้ำหนักไข่ (กรัม/ฟอง) มวลไข่ (กรัม) และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ดังแสดงไว้ในตารางที่ 4.3 โดยพบว่าการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 0, 16, 24 และ 32% ในสูตรอาหารมีค่าเฉลี่ยปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวันในช่วงสัปดาห์ที่ 1 ถึง 4 เท่ากับ 106, 107, 107 และ 106 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ และในช่วงสัปดาห์ที่ 1 ถึง 8 มีค่าเฉลี่ยปริมาณอาหารที่กินเท่ากับ 107, 109, 109 และ 107 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ โดยปริมาณอาหารที่กินต่อตัวต่อวันในแต่ละสัปดาห์ของไก่ไข่ทุกกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารของไก่ไข่ที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักในช่วงสัปดาห์ที่ 1 ถึง 8 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.85, 1.96, 2.01 และ 2.07 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และลดลงแบบเส้นตรง (linear) ตามระดับของกากมันสำปะหลังหมักที่ใช้เพิ่มขึ้นในสูตรอาหาร ($p<0.05$)

นอกจากนี้การใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับต่าง ๆ (0, 16, 24 และ 32%) ต่อผลผลิตไข่ ช่วงสัปดาห์ที่ 1 ถึง 4 มีผลผลิตไข่เฉลี่ยเท่ากับ 94, 92, 90 และ 86% ตามลำดับ และในช่วงสัปดาห์ที่ 1 ถึง 8 มีผลผลิตไข่เฉลี่ยเท่ากับ 92, 91, 88 และ 83% ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่าการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 0-24% ในสูตรอาหารไม่มีผลกระทบต่อผลผลิตไข่ แต่เมื่อใช้ที่ระดับ 32% ส่งผลให้ผลผลิตไข่ลดลงแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และผลผลิตไข่จะมีค่าลดลงแบบเส้นตรงตามระดับของการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่สูงขึ้นในสูตรอาหาร ($p<0.05$) ส่วนน้ำหนักไข่ (กรัม/ฟอง) ในแต่ละสัปดาห์ของไก่ไข่ทุกกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยช่วงสัปดาห์ที่ 1 ถึง 4 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 62, 60, 61 และ 63 กรัม/ฟอง และมีอำนาจการทดสอบเท่ากับ 0.30 ในช่วงสัปดาห์ที่ 1 ถึง 8 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 63, 61, 61 และ 63 กรัม/ฟอง และมีอำนาจการทดสอบเท่ากับ 0.19

ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารทั้ง 4 สูตร ต่อมวลไข่ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของไก่ไข่ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 4.4 พบว่าการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับต่าง ๆ (0, 16, 24 และ 32%) ไม่มีผลกระทบต่อมวลไข่ในช่วงสัปดาห์ที่ 1 ถึง 4 ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 58, 56, 55 และ 54 ตามลำดับ แต่มีผลกระทบต่อมวลไข่ในช่วงสัปดาห์ที่ 1 ถึง 8 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 58, 56, 54 และ 54 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และมวลไข่จะลดลงแบบเส้นตรงตามระดับของการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่สูงขึ้น ($p<0.05$) นอกจากนี้การใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ ต่อประสิทธิภาพการใช้โปรตีน พบว่าในช่วงสัปดาห์ที่ 1 ถึง 4 ไก่ไข่มีค่าเฉลี่ยประสิทธิภาพการใช้โปรตีนเท่ากับ 2.64, 2.45, 2.43 และ 2.40 ตามลำดับ และในช่วงสัปดาห์ที่ 1 ถึง 8 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.57, 2.39, 2.33 และ 2.26 ตามลำดับ ซึ่งในทั้งสองช่วงการทดลองพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของไก่ไข่จะลดลงแบบเส้นตรงตามระดับของการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่เพิ่มขึ้นในสูตรอาหาร ($p<0.05$) โดยค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนเป็นตัวบ่งบอกถึงคุณภาพของโปรตีนในสูตรอาหาร

จากผลการทดลองพบว่าสามารถใช้กากมันสำปะหลังหมักได้ถึงระดับ 24% โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการผลิตของไก่ไข่ ในด้านปริมาณอาหารที่กิน ผลผลิตไข่ และน้ำหนักไข่ โดย วิรชัย พลโรม และคณะ (2536) รายงานว่าการใช้กากมันสำปะหลังจากการผลิตแอลกอฮอล์เพื่อทดแทนข้าวโพดในอาหารไก่ไข่ พบว่าสามารถใช้ได้ถึง 30% โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และผลผลิตไข่ Chumpawadee et al. (2009) รายงานว่าการใช้มันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* ในอาหารไก่ไข่ ไม่มีผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของแม่ไก่ แต่มันสำปะหลังหมักทำให้ผลผลิตไข่ลดลง น้ำหนักไข่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Salami and Odunsi (2003) รายงานว่าการใช้เปลือกมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 20% ไม่มีผลกระทบต่ออัตราการให้ไข่ แต่เมื่อ

ใช้ในปริมาณที่มากขึ้น (30 - 40%) พบว่าอัตราการให้ไข่จะลดลง ($p<0.01$) เนื่องจากอาหารมีปริมาณเยื่อใยสูงจึงมีผลกระทบต่อการกินได้ และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร

จากผลการศึกษาพบว่าการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่สูงขึ้นในสูตรอาหารมีผลทำให้ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหาร ผลผลิตไข่ มวลไข่ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนลดลงแบบเส้นตรงตามระดับของการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่สูงขึ้น ($p<0.05$) โดยผลผลิตไข่ที่ลดลงส่งผลให้ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารของไก่ไข่ที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักมีค่าสูงกว่าไก่ไข่ที่ไม่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งอัตราการให้ไข่ของไก่ที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 0 - 24% ในสูตรอาหารไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) โดยผลผลิตไข่ตลอดช่วงการทดลองมีค่าระหว่าง 88 - 92% ในขณะที่การใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 32% มีผลผลิตไข่ 83% ซึ่งมีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p<0.05$)

จากการรวบรวมเอกสารพบว่าการใช้มันสำปะหลังในอาหารไก่ไข่มีผลทำให้อัตราการให้ผลผลิตไข่ลดลง ($p<0.05$) แต่การใช้มันสำปะหลังในระดับที่เพิ่มขึ้นร่วมกับการเติมกรดอะมิโนที่จำเป็น พบว่าอัตราการให้ผลผลิตไข่ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p>0.05$) (Aina and Fanimo, 1997; Eruvbetine and Oguntona, 1997; Onifade, Tewe, Okunola and Fanimo, 1999) นอกจากนี้ สมเจตน์ ใจภักดี (2530) รายงานว่า การใช้มันสำปะหลังหมักในนกกระทาไข่ พบว่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับข้าวโพดแต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) ซึ่งประสิทธิภาพการใช้โปรตีนที่ลดลงอาจเนื่องมาจากคุณภาพของโปรตีนในอาหาร Kamran, Sarwar, Nisa, Nadeem, Mahmood, Babar and Ahmed, (2008); Widyaratne and Drew (2011) รายงานว่าเมื่อระดับโปรตีนในอาหารลดลงจะส่งผลให้ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนลดลงด้วย ซึ่งเกิดจากระดับของกรดอะมิโนในอาหาร

การให้ผลผลิตไข่เกี่ยวข้องกับปริมาณการกินได้ของพลังงาน และโปรตีน โดยสูตรอาหารของการทดลองได้มีการปรับพลังงาน และโปรตีนให้เท่ากันตรงตามความต้องการของไก่ไข่ แต่สิ่งที่สำคัญของความต้องการโปรตีนในสัตว์ปีกคือความต้องการกรดอะมิโน ดังนั้นอาหารแต่ละสูตรได้มีการปรับสมดุลของกรดอะมิโนที่จำเป็น เช่น เมทไทโอนีน ไลซีน อาร์จินีน และทรีโอนีน ให้เพียงพอกับความต้องการของไก่ไข่ (0.39, 0.74, 1.02 และ 0.51 กรัม) อย่างไรก็ตามจากการคำนวณปริมาณไลซีนในอาหารที่ใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 16, 24 และ 32% พบว่ามีปริมาณไลซีนเท่ากับ 1.61, 1.98 และ 2.34% ตามลำดับ ซึ่งการใช้กากมันสำปะหลังหมักในระดับที่เพิ่มขึ้นทำให้มีปริมาณไลซีนในสูตรอาหารเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ปริมาณของอาร์จินีนในสูตรอาหารที่มีการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 32% นั้นไม่เพียงพอต่อความต้องการของไก่ไข่ ดังนั้นการได้รับกรดอะมิโนที่ไม่สมดุลจึงมีผลกระทบต่อการให้ผลผลิตของไก่ไข่ได้นอกจากนี้สัดส่วนระหว่างกรดอะมิโนจำเป็นต่อกรดอะมิโนไม่จำเป็น (EAA : NEAA) ในสูตรอาหารต้องมีความสมดุลกัน (Bedford and

Summers, 1985) แต่จากการทดลองพบว่าการใช้กากมันสำปะหลังหมักทำให้สัดส่วนของกรดอะมิโนไม่จำเป็นสูงกว่ากรดอะมิโนจำเป็น ดังนั้นเมื่อใช้กากมันสำปะหลังหมักมากขึ้นในสูตรอาหารอาจทำให้มีกรดอะมิโนบางตัวที่เกินหรือไม่เพียงพอกับความต้องการ ซึ่งกรดอะมิโนในอาหารมีความสัมพันธ์ระหว่างกัน และหรือมีความสัมพันธ์กับโภชนะอื่น ๆ (สาโรช ค้าเจริญ, 2547; Leeson and Summers, 1997) จึงส่งผลกระทบต่อการลดลงของผลผลิตไข่ ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารมวลไข่ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของไก่ไข่ได้ โดยความไม่สมดุลของกรดอะมิโนจะมีผลต่อการเผาผลาญสารอาหาร เนื่องจากสัตว์นำพลังงานที่ได้มากำจัดกรดอะมิโนส่วนเกินออกนอกร่างกาย (Figueiredo, Bertechini, Fassani, Rodrigues, Brito and Castro, 2012)

4.2.2 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ต่อคุณภาพไข่

ผลการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ในสูตรอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 0, 16, 24 และ 32% ต่อคุณภาพไข่ ได้แก่ น้ำหนักเปลือกไข่ ความหนาเปลือกไข่ น้ำหนักไข่ขาว น้ำหนักไข่แดง สีไข่แดง ความสูงไข่ขาว และค่าฮอร์ยูนิต ดังแสดงไว้ในตารางที่ 4.5 โดยพบว่าการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับต่าง ๆ (0, 16, 24 และ 32%) ในสูตรอาหารไม่มีผลกระทบต่อน้ำหนักเปลือกไข่ ความหนาเปลือกไข่ น้ำหนักไข่ขาว น้ำหนักไข่แดง และความสูงไข่ขาวในช่วงสัปดาห์ที่ 1 ถึง 8 ของการทดลอง ($p>0.05$) โดยมีน้ำหนักเปลือกไข่เฉลี่ยเท่ากับ 9.02, 8.47, 8.68 และ 8.60 กรัม ความหนาเปลือกไข่เฉลี่ยเท่ากับ 0.40, 0.40, 0.41 และ 0.40 มิลลิเมตร น้ำหนักไข่ขาวเฉลี่ยเท่ากับ 37.39, 34.89, 36.65 และ 38.55 กรัม น้ำหนักไข่แดงเฉลี่ยเท่ากับ 17.23, 16.53, 16.87 และ 16.40 กรัม และความสูงไข่ขาวเฉลี่ยเท่ากับ 6.90, 6.93, 7.65 และ 7.30 มิลลิเมตร ตามลำดับ อย่างไรก็ตามการใช้กากมันสำปะหลังหมักในสูตรอาหารมีผลทำให้สีไข่แดงลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p<0.05$) และพบว่าสีไข่แดงจะลดลงแบบเส้นตรง ($p<0.05$) ตามระดับของการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่เพิ่มขึ้นในสูตรอาหารตลอดช่วงการทดลอง โดยสีไข่แดงมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.69, 6.25, 5.75 และ 4.69 ตามลำดับ นอกจากนี้การศึกษาคุณภาพไข่ขาวซึ่งวัดโดยใช้ค่าฮอร์ยูนิต พบว่าในช่วงสัปดาห์ที่ 1 ถึง 4 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 85.15, 85.01, 85.26 และ 86.69% ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ในขณะที่ช่วงสัปดาห์ที่ 1 ถึง 8 มีค่าฮอร์ยูนิต เฉลี่ยเท่ากับ 80.38, 79.99, 84.48 และ 86.21 ตามลำดับ โดยไก่ไข่ที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 24 และ 32% พบว่ามีค่าฮอร์ยูนิตสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p<0.05$)

จากผลการศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ พบว่าไม่มีผลกระทบต่อน้ำหนักเปลือกไข่ ความหนาเปลือกไข่ น้ำหนักไข่ขาว น้ำหนักไข่แดง และความสูงไข่ขาว โดยไก่ไข่มีการใช้ประโยชน์จากโภชนะในการสร้างองค์ประกอบของไข่ได้อย่างมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับอาหารทดลองที่ใช้ข้าวโพดเป็นแหล่งพลังงานหลัก อาจเนื่องมาจากอาหารทุกสูตรในแต่ละกลุ่มการทดลองมีการปรับสมดุลของโภชนะให้ครบถ้วนเท่ากันหรือใกล้เคียงกัน และเพียงพอกับความ

ต้องการของไก่ไข่ จึงส่งผลให้คุณภาพไข่ดังที่กล่าวไว้ข้างต้นไม่มีความแตกต่างกัน

จากการวิเคราะห์สีของไข่แดงโดยเทียบกับพัดสีโรช พบว่าไก่ไข่ที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักตลอดช่วงการทดลองมีคะแนนสีไข่แดงต่ำกว่ากลุ่มควบคุม โดยไก่ไข่ที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมัก 32% ในสูตรอาหารมีสีไข่แดงเฉลี่ยต่ำที่สุด (4.69 คะแนน) ส่วนไก่ไข่กลุ่มควบคุม (ข้าวโพด) มีสีไข่แดงเฉลี่ยเท่ากับ 6.69 คะแนน วิรชัย พลโรม และคณะ (2536) ทำการศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังจากการผลิตแอลกอฮอล์เพื่อทดแทนข้าวโพดในอาหารไก่ไข่พันธุ์อิซ่าบราวน์ พบว่าไก่ไข่จะมีคะแนนสีไข่แดงลดลงตามระดับของสูตรอาหารที่มีกากมันสำปะหลังจากการผลิตแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้น ($p<0.05$) Belyavin and Marangos (1987) รายงานว่าไก่ไข่ไม่สามารถสังเคราะห์สารสีเองได้ ซึ่งการสะสมสารสีในไข่แดงจะขึ้นอยู่กับปริมาณสารแซนโทฟิลล์ (xanthophylls) และคุณภาพของแซนโทฟิลล์ในอาหาร

กากมันสำปะหลังหมักเป็นวัตถุดิบที่ไม่มีสารสี ด้วยเหตุนี้จึงส่งผลให้ไก่ไข่ที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักมีคะแนนสีไข่แดงต่ำลง ส่วนไก่ไข่กลุ่มควบคุมที่ได้รับข้าวโพดเป็นแหล่งพลังงานหลักมีคะแนนสีไข่แดงเข้มกว่า เนื่องจากข้าวโพดมีสารให้สีที่สำคัญได้แก่ แซนโทฟิลล์ และลูทีน ปริมาณ 17 และ 0.12 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (NRC, 1994) ทั้งนี้ในการทดลองไม่มีการปรับหรือเพิ่มระดับของสารให้สีในอาหารทุกสูตร ดังนั้นเมื่อมีการใช้กากมันสำปะหลังหมักในระดับที่เพิ่มขึ้นและลดระดับการใช้ข้าวโพดลงจึงส่งผลให้คะแนนสีไข่แดงลดลง

การนำกากมันสำปะหลังหมักไปใช้เป็นวัตถุดิบอาหารไก่ไข่จึงควรคำนึงถึงเรื่องการเพิ่มสารให้สีในสูตรอาหารด้วย เนื่องจากสีของไข่แดงมีอิทธิพลต่อการเลือกซื้อของผู้บริโภค ดังนั้นการเสริมสารเพิ่มสี (carotenoids และ xanthophylls) ที่ระดับ 50-80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของอาหาร (สาโรช ค้าเจริญ, 2547) หรือการใช้กากมันสำปะหลังหมักร่วมกับวัตถุดิบแหล่งของสารเพิ่มสี เช่น ดอกดาวเรือง และพริก เป็นต้น จะช่วยแก้ไขปัญหาดังกล่าวได้ โดยการใช้สารสีจากหลาย ๆ แหล่งเสริมในสูตรอาหารมันสำปะหลัง จะทำให้สีของไข่แดงเป็นธรรมชาติมากขึ้น (สาโรช ค้าเจริญ และเยาวมาลย์ ค้าเจริญ, 2527)

นอกจากนี้การใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 24 และ 32% มีผลทำให้ค่าฮอร์ยูนิตสูงขึ้น ($p<0.05$) ซึ่งค่าฮอร์ยูนิตจะเป็นตัวชี้วัดคุณภาพของไข่ขาว โดยไข่ไก่ที่มีคุณภาพดีค่าฮอร์ยูนิตจะสูง (Silversides and Villeneuve, 1994) ค่าฮอร์ยูนิตจะเกี่ยวข้องกับระดับของกรดอะมิโนในอาหารโดยการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนในอาหารจะส่งผลต่อการสะสมอัลบูมินในฟองไข่ นอกจากนี้การย่อยได้ของไลซีน และทรีโอนีน ยังมีความสัมพันธ์ต่อค่าฮอร์ยูนิตอีกด้วย คือระดับของไลซีนที่สูงขึ้นจะทำให้ทรีโอนีนมีการย่อยได้เพิ่มขึ้น และส่งผลให้ค่าฮอร์ยูนิตเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามหากการย่อยได้ของทรีโอนีนลดลงอาจทำให้ค่าฮอร์ยูนิตลดลงด้วย (Schmidt et al., 2010; Figueiredo et al., 2012) ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าสูตรอาหารที่ใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 24 และ 32% มีปริมาณ

ไลซีนสูงกว่าไก่ไข่กลุ่มอื่น ๆ (1.98 และ 2.34 กรัม) และมีทรีโอนีนเท่ากับ 0.59, 0.57, 0.57 และ 0.56 กรัม ดังนั้นจากปริมาณไลซีนที่สูงขึ้นจึงช่วยให้ไข่ไก่มีค่าฮอร์ยูนิตสูง

ตารางที่ 4.3 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ต่อสมรรถนะการผลิต

		Fermented cassava pulp				
	Control	**16%**	**24%**	**32%**	**SEM[1]**	**Trend[2]**
Feed intake, g/h/d						
week 1	108.33	108.51	107.26	106.49	2.48	NS[3]
week 2	112.38	113.27	114.94	112.44	1.62	NS
week 3	91.37	95.00	92.32	94.76	1.64	NS
week 4	112.02	114.13	113.64	111.16	1.36	NS
week 5	105.18	110.21	109.03	110.70	1.92	NS
week 6	108.99	109.85	109.76	110.28	2.79	NS
week 7	109.40	112.94	116.64	113.01	3.12	NS
week 8	110.59	110.34	108.68	104.79	1.84	NS
week 1 to 4	106.03	107.73	107.04	106.03	1.38	NS
week 5 to 8	108.54	110.83	111.03	109.68	2.00	NS
week 1 to 8	107.29	109.28	109.04	107.96	1.38	NS
Feed conversion ratio						
week 1	1.87	1.92	1.98	1.94	0.06	NS
week 2	1.87^{b}	2.01^{ab}	2.07^{a}	2.14^{a}	0.05	L=0.0039[4]
week 3	1.55^{b}	1.73^{a}	1.67^{a}	1.71^{a}	0.03	NS
week 4	1.90	2.04	2.05	2.08	0.05	NS
week 5	1.80^{b}	1.99^{ab}	2.13^{a}	2.16^{a}	0.07	L=0.0032
week 6	1.89^{c}	2.01^{bc}	2.08^{ab}	2.26^{a}	0.06	L=0.0007
week 7	1.96^{c}	2.03^{bc}	2.17^{ab}	2.27^{a}	0.06	L=0.0022
week 8	1.97	1.99	2.00	2.06	0.08	NS
week 1 to 4	1.80^{b}	1.93^{a}	1.94^{a}	1.96^{a}	0.03	L=0.0025
week 5 to 8	1.91^{c}	2.00^{bc}	2.09^{ab}	2.19^{a}	0.05	L=0.0012
week 1 to 8	1.85^{c}	1.96^{b}	2.01^{ab}	2.07^{a}	0.03	L=0.0002

ตารางที่ 4.3 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ต่อสมรรถนะการผลิต (ต่อ)

		Fermented cassava pulp				
	Control	**16%**	**24%**	**32%**	**SEM[1]**	**Trend[2]**
Egg production, %						
week 1	94.94	94.05	89.58	89.88	1.67	NS
week 2	95.24[a]	93.75[a]	91.07[a]	82.44[b]	2.39	L=0.0021
week 3	92.86	91.37	90.48	89.18	1.82	NS
week 4	93.15	92.45	90.1	85.74	2.06	NS
week 5	91.96[a]	90.61[a]	87.61[ab]	81.85[b]	2.28	L=0.0066
week 6	92.56[a]	89.75[a]	86.61[ab]	78.22[b]	2.95	L=0.0044
week 7	90.18	90.88	86.66	79.49	3.22	NS
week 8	90.48	90.50	87.88	80.28	3.06	NS
week 1 to 4	94.05[a]	92.91[a]	90.31[ab]	86.81[b]	1.53	L=0.0040
week 5 to 8	91.29[a]	90.43[a]	87.19[a]	79.96[b]	2.19	L=0.0025
week 1 to 8	92.67[a]	91.67[a]	88.75[a]	83.38[b]	1.32	L=0.0002
Egg weight, g/egg						
week 1	61.09	60.28	60.52	61.24	1.02	NS
week 2	63.09	60.12	60.95	64.35	1.70	NS
week 3	63.52	60.11	61.24	64.73	1.33	NS
week 4	63.39	60.95	61.63	62.34	0.80	NS
week 5	63.85	61.48	59.02	62.76	1.95	NS
week 6	62.61	61.23	61.33	62.86	1.05	NS
week 7	62.46	61.51	62.33	63.42	0.94	NS
week 8	63.38	61.77	62.42	64.04	0.88	NS
week 1 to 4	62.92	60.93	61.18	63.22	0.95	NS
week 5 to 8	62.78	60.36	61.09	63.17	0.93	NS
week 1 to 8	63.07	61.49	61.27	63.27	1.09	NS

หมายเหตุ : [a - c] Means in the same row with different letters are significantly different ($p<0.05$)

[1] Standard error of mean; [2] Refer to polynomial trend analysis; [3] Not significant; [4] Linear trend

ตารางที่ 4.4 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารต่อมวลไข่ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของไก่ไข่

		Fermented cassava pulp				
	Control	**16%**	**24%**	**32%**	**SEM[1]**	**Trend[2]**
Egg mass, g						
week 1	57.94	56.68	54.25	55.00	1.07	NS[3]
week 2	60.07[a]	56.37[ab]	55.53[ab]	52.86[b]	1.56	L=0.0075[4]
week 3	58.94	54.91	55.40	57.81	1.72	NS
week 4	59.02[a]	56.34[ab]	55.50[ab]	53.43[b]	1.16	L=0.0052
week 5	58.70[a]	55.615[a]	51.59[b]	51.19[b]	1.25	L=0.0005
week 6	57.94[a]	54.87[ab]	53.11[bc]	49.03[c]	1.49	L=0.0011
week 7	56.27	55.87	54.01	50.29	1.71	NS
week 8	57.26	55.95	54.87	51.37	2.01	NS
week 1 to 4	58.99	56.08	55.64	54.78	1.06	NS
week 5 to 8	58.46	56.30	54.81	53.42	0.85	NS
week 1 to 8	58.03[a]	56.13[ab]	54.62[b]	54.37[b]	0.66	L=0.0024
Protein efficiency ratio						
week 1	2.54	2.48	2.49	2.46	0.06	NS
week 2	2.54[a]	2.36[ab]	2.29[b]	2.23[b]	0.06	L=0.0026
week 3	3.07[a]	2.80[b]	2.74[b]	2.72[b]	0.07	L=0.0145
week 4	2.50[a]	2.28[b]	2.27[b]	2.24[b]	0.07	L=0.0155
week 5	2.63[a]	2.38[b]	2.34[b]	2.15[c]	0.04	L=0.0001
week 6	2.52[a]	2.34[a]	2.32[a]	2.07[b]	0.06	L=0.0004
week 7	2.43[a]	2.29[ab]	2.22[bc]	2.05[c]	0.06	L=0.0011
week 8	2.42	2.41	2.34	2.22	0.10	NS
week 1 to 4	2.64[a]	2.45[b]	2.43[b]	2.40[b]	0.05	L=0.0040
week 5 to 8	2.50[a]	2.32[ab]	2.23[b]	2.12[b]	0.07	L=0.0016
week 1 to 8	2.57[a]	2.39[b]	2.33[b]	2.26[b]	0.05	L=0.0006

หมายเหตุ : [a - c] Means in the same row with different letters are significantly different ($p<0.05$)

[1] Standard error of mean; [2] Refer to polynomial trend analysis; [3] Not significant; [4] Linear trend

ตารางที่ 4.5 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ต่อคุณภาพไข่

		Fermented cassava pulp				
	Control	**16%**	**24%**	**32%**	**SEM[1]**	**Trend[2]**
Egg shell weight (g)						
week 1 to 2	8.76	8.57	8.47	8.46	0.203	NS[3]
week 1 to 4	8.32	8.93	8.29	9.00	0.252	NS
week 1 to 6	8.28	8.65	8.46	8.88	0.256	NS
week 1 to 8	9.02	8.47	8.68	8.60	0.304	NS
Shell thickness (mm)						
week 1 to 2	0.33	0.34	0.33	0.33	0.007	NS
week 1 to 4	0.38[b]	0.39[a]	0.40[a]	0.41[a]	0.004	L=0.0007[4]
week 1 to 6	0.40	0.40	0.41	0.42	0.009	NS
week 1 to 8	0.40	0.40	0.41	0.40	0.006	NS
Albumen weight (g)						
week 1 to 2	36.07	35.93	37.68	38.38	0.699	NS
week 1 to 4	36.56	36.25	36.32	36.03	0.670	NS
week 1 to 6	37.69	36.00	35.26	37.64	0.939	NS
week 1 to 8	37.39	34.89	36.65	38.55	1.013	NS
Yolk weight (g)						
week 1 to 2	16.99	16.11	16.17	16.62	0.413	NS
week 1 to 4	16.67	16.55	16.06	16.35	0.389	NS
week 1 to 6	16.92	16.45	16.57	16.42	0.359	NS
week 1 to 8	17.23	16.53	16.87	16.40	0.405	NS
Yolk color						
week 1 to 2	6.88[a]	5.31[b]	4.81[bc]	4.44[c]	0.181	L=0.0001
week 1 to 4	6.25[a]	5.31[ab]	5.00[bc]	4.18[c]	0.314	L=0.0006
week 1 to 6	7.06[a]	5.62[b]	4.62[c]	4.56[c]	0.209	L=0.0001
week 1 to 8	6.69[a]	6.25[a]	5.75[b]	4.69[c]	0.339	L=0.0001

ตารางที่ 4.5 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ต่อคุณภาพไข่ (ต่อ)

		Fermented cassava pulp				
	Control	**16%**	**24%**	**32%**	**SEM[1]**	**Trend[2]**
Albumen height (mm)						
week 1 to 2	8.00[a]	7.18[b]	7.48[ab]	7.68[ab]	0.176	NS
week 1 to 4	7.29	7.51	7.40	7.62	0.224	NS
week 1 to 6	7.67	7.57	8.11	7.56	0.149	NS
week 1 to 8	6.90	6.93	7.65	7.30	0.212	NS
Haugh unit (%)						
week 1 to 2	87.41	86.88	85.47	86.24	0.666	NS
week 1 to 4	85.15	85.01	85.26	86.69	0.993	NS
week 1 to 6	85.51[bc]	83.42[c]	90.50[a]	86.78[b]	0.908	L=0.0198
week 1 to 8	80.38[b]	79.99[b]	84.48[a]	86.21[a]	0.885	L=0.0002

หมายเหตุ : [a - c] Means in the same row with different letters are significantly different ($p<0.05$)

[1] Standard error of mean

[2] Refer to polynomial trend analysis

[3] Not significant

[4] Linear trend

4.2.3 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ในอาหารไก่ไข่ ต่อปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่

ผลการศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ในสูตรอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 0, 16, 24 และ 32% ต่อปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 4.6 โดยการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับต่าง ๆ ไม่มีผลกระทบต่อปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดง จากผลการทดลองในช่วงสัปดาห์ที่ 1 ถึง 4 พบว่ามีปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่เฉลี่ยเท่ากับ 166.88, 162.47, 153.83 และ 156.20 มิลลิกรัมต่อฟอง ตามลำดับ และช่วงสัปดาห์ที่ 1 ถึง 8 มีปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่เฉลี่ยเท่ากับ 194.08, 190.48, 188.78 และ 188.93 มิลลิกรัมต่อฟอง ตามลำดับ ซึ่งทั้งสองช่วงการทดลองของไก่ไข่แต่ละกลุ่มมีปริมาณคอเลสเตอรอลไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) อย่างไรก็ตามการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ส่งผลให้มีปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่ต่ำกว่าค่าเฉลี่ยโดยปกติในไข่ไก่มีปริมาณคอเลสเตอรอล 200 - 220 มิลลิกรัมต่อฟอง ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่ขึ้นอยู่กับการปริมาณคอเลสเตอรอลในอาหาร หรือการนำคอเลสเตอรอลใน

ร่างกายกลับมาใช้ใหม่ ซึ่งส่วนใหญ่ไก่ไข่จะตอบสนองต่อการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลขึ้นมาใหม่วันละ 300 มิลลิกรัม ในตับและรังไข่ (Valenzuela, Sanhueza and Nieto, 2003; Kim, Hong, Lee and Kim, 2004; Liu, Zhao, Thiessen, House and Jones, 2010)

โดยเยื่อใยมีบทบาทสำคัญในการช่วยลดคอเลสเตอรอลได้ เนื่องจากเยื่อใยจะขัดขวางการย่อย และการดูดซึมไขมันหรือคอเลสเตอรอลบริเวณลำไส้เล็ก จึงทำให้สารตั้งต้นในการผลิตคอเลสเตอรอลลดลง อีกทั้งยังขัดขวางการดูดกลับของน้ำดีที่ร่างกายหลั่งออกมาเพื่อสลายโมเลกุลของไขมัน จึงส่งผลให้ร่างกายต้องผลิตน้ำดีขึ้นมาใหม่ ซึ่งร่างกายต้องใช้คอเลสเตอรอลในการสังเคราะห์กรดน้ำดี จึงส่งผลให้ปริมาณคอเลสเตอรอลลดลง (Menge, Littlefield, Frobish Andb and Weinl, 1974; St-Onge, Farnworth and Jones, 2000) ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการวัดปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่ไก่ ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 16, 24 และ 32% ในอาหารสูตรไก่ไข่ตลอดช่วงการทดลองมีผลทำให้ปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่ลดลง 3.60, 5.30 และ 5.15% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ทั้งนี้อาจเกิดจากปริมาณเยื่อใยที่เพิ่มขึ้นในอาหารแต่ละสูตร อย่างไรก็ตามในทุกกลุ่มการทดลองให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 4.6 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ต่อปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่

		Fermented cassava pulp				
	control	**16%**	**24%**	**32%**	**SEM[1]**	**Trend[2]**
Cholesterol (mg / egg)						
Week 1 to 4	166.88	162.47	153.83	156.20	4.89	NS[3]
Week 1 to 8	194.08	190.48	188.78	188.93	5.65	NS

หมายเหตุ : [1] Standard error of mean

[2] Refer to polynomial trend analysis

[3] Not significant

4.2.4 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ ต่อจำนวนประชากรจุลินทรีย์และปริมาณกรดไขมันระเหยได้ใน digesta บริเวณลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม

ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ ต่อจำนวนประชากรจุลินทรีย์ และปริมาณกรดไขมันระเหยได้ใน digesta บริเวณลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.7 จากการทดลองพบว่าการใช้กากมันสำปะหลังหมักทุกระดับ (0, 16, 24 และ 32%) ในสูตรอาหารไก่ไข่ไม่มีผลในการเปลี่ยนแปลงจำนวนประชากรจุลินทรีย์ ได้แก่ *E. coli, Bifidobacterium,* และ

Lactobacillus spp. ใน digesta บริเวณลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม ($p>0.05$) โดย *E. coli* มีจำนวนเฉลี่ยเท่ากับ 6.34, 5.60, 5.73 และ 5.63 log CFU/g *Bifidobacterium* มีจำนวนเฉลี่ยเท่ากับ 8.00, 7.26, 7.24 และ 7.23 log CFU/g และ *Lactobacillus spp.* มีจำนวนเฉลี่ยเท่ากับ 8.20, 8.03, 8.14 และ 7.81 log CFU/g ตามลำดับ

นอกจากนี้ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันระเหยได้ใน digesta บริเวณลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม พบว่าการใช้กากมันสำปะหลังหมักสามารถเพิ่มปริมาณกรดอะซิติก และกรดบิวทีริกได้เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p<0.05$) แต่ไม่พบความแตกต่างดังกล่าวในส่วนของกรดโพรพิโอนิก โดยปริมาณของกรดอะซิติก และกรดบิวทีริกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแบบเส้นตรง ($p<0.05$) ตามระดับของกากมันสำปะหลังหมักที่สูงขึ้น ซึ่งกรดอะซิติกมีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ 209.32, 285.44, 294.29 และ 277.92 ไมโครโมลต่อกรัม ตามลำดับ และกรดบิวทีริกมีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ 65.35, 82.12, 97.68 และ 76.56 ไมโครโมลต่อกรัม ตามลำดับ ส่วนกรดโพรพิโอนิกมีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ 24.48, 25.61, 24.08 และ 24.32 ไมโครโมลต่อกรัม

อย่างไรก็ตามการทดลองใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่นั้นไม่ได้ทำให้สัดส่วนของประชากรจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารเปลี่ยนแปลงไป แต่สามารถเพิ่มปริมาณกรดอะซิติก และกรดบิวทีริกได้ ซึ่งกรดไขมันระเหยได้มีบทบาทสำคัญต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ก่อโรค ข้อดีของการผลิตกรดไขมันละเหยได้จากจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ คือช่วยลด pH ในลำไส้และซีกัมไม่ให้เหมาะสมสำหรับการขยายตัวของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค โดยเฉพาะกรดบิวทีริคสามารถช่วยป้องกันการเข้าเกาะ และตั้งถิ่นฐานของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ

การเพิ่มขึ้นของกรดอะซิติกเป็นผลมาจากการหมักย่อยเซลลูโลสของเชื้อจุลินทรีย์ เช่น *Bifidobacterium* และ *Lactobacillus spp.*ในซีกัม อีกทั้งยังมีผลทำให้กรดบิวทีริกเพิ่มขึ้น (Van Soest, 1982; Donalson, Kim, Chalova, Herrera, Mc-Reynolds, Gotcheva, Vidanovic, Woodward, Kubena, Nisbet and Ricke, 2008; Chotikatum, Kramomthong and Angkanaporn, 2009) ทั้งนี้เยื่อใยในกากมันสำปะหลังหมักส่วนใหญ่เป็นเยื่อใยชนิดไม่ละลายน้ำ ซึ่งอาจมีเซลลูโลสเป็นส่วนประกอบสัตว์จึงไม่สามารถใช้ประโยชน์ได้ แต่ถูกใช้ประโยชน์โดยจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารส่วนท้าย และผลิตกรดไขมันระเหยได้ออกมา Hetland and Svihus (2001); Lopes - Lutz, Alviano, Alviano and Kolodziejczyk (2008) รายงานว่าเยื่อใยมีผลทำให้จำนวนประชากรของ *Coliform* และ *E. coli* ในลำไส้ใหญ่ส่วนต้นลดลง แต่ไม่มีผลกระทบกับจำนวนประชากร *Lactobacillus spp.* ในไก่เนื้อ อีกทั้งกรดไขมันระเหยได้ยังมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* แต่อย่างไรก็ตามการทดลองครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างของจำนวนประชากรจุลินทรีย์ใน digesta บริเวณลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการตรวจชนิดของจุลินทรีย์เพียง 3 ชนิด ซึ่งเยื่อใยในกากมันสำปะหลังหมักอาจจะไปมีบทบาทต่อจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้

ตารางที่ 4.7 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ต่อจำนวนประชากรจุลินทรีย์และปริมาณกรดไขมันระเหยได้ใน digesta บริเวณลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัม

		Fermented cassava pulp				
	Control	**16%**	**24%**	**32%**	**SEM[1]**	**Trend[2]**
Microbial population, log CFU/g						
E.coli	6.34	5.60	5.73	5.63	0.19	NS[3]
Bifidobacterium	8.00	7.26	7.24	7.23	0.25	NS
Lactobacillus spp.	8.20	8.03	8.14	7.81	0.13	NS
VFA, µmol/g						
Acetic acid	209.32[b]	285.44[a]	294.29[a]	277.92[a]	18.61	L=0.0155[4]
Propionic acid	24.48	25.61	24.08	24.32	0.83	NS
Butyric acid	65.35[b]	82.12[ab]	97.68[a]	76.56[b]	9.38	L=0.0080

หมายเหตุ : [a - b] Means in the same row with different letters are significantly different ($p<0.05$)

[1] Standard error of mean

[2] Refer to polynomial trend analysis

[3] Not significant

[4] Linear trend

4.2.5 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ต่อค่าทางชีวเคมีของโลหิต

ผลการศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ต่อค่าทางชีวเคมีของโลหิต ได้แก่ เอนไซม์แอสพาเตทอะมิโนทรานฟอเรส (AST) เอนไซม์อะลานีนอะมิโนทรานฟอเรส (ALT) ปริมาณยูเรียไนโตรเจน ปริมาณคอเลสเตอรอล และปริมาณอิมมูโนโกลบูลิน ดังแสดงไว้ในตารางที่ 4.8 จากการทดลองพบว่าค่าเอนไซม์ AST ในไก่ไข่ที่ได้รับกากมันสำปะหลงหมักในระดับต่าง ๆ (0, 16, 24 และ 32%) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 164.75, 182.50, 178.00 และ191.25 U/L ตามลำดับ ส่วนปริมาณเอนไซม์ ALT มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.67, 6.25, 8.50 และ 9.00 U/L ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) โดยเอนไซม์ทั้งสองชนิดจะพบมากในเซลล์ตับหากเซลล์ตับถูกทำลายเอนไซม์เหล่านี้จะถูกปล่อยเข้าสู่กระแสเลือดเพิ่มขึ้น ดังนั้นการวัดระดับเอนไซม์ AST และเอนไซม์ ALT ของไก่ไข่จึงเป็นการตรวจสอบเบื้องต้นถึงสภาพร่างกายของสัตว์ การบ่งบอกถึงลักษณะเบื้องต้นของความเป็นพิษจากกากมันสำปะหลังหมัก และระดับกิจกรรมของเอนไซม์ AST และ ALT เป็นตัวบ่งชี้ถึงความเสียหายของตับในไก่ไข่ (Zheng, Oh, Jeon, Moon, Kwon, Lim, An and Kang, 2012) โดยค่าปกติของเอนไซม์ AST และ ALT ในสัตว์ปีก คือ 52 - 270 และ 6.5 - 263 U/ L

ตามลำดับ จากการทดลองปริมาณเอนไซม์ AST ที่ตรวจพบอยู่ในเกณฑ์ปกติของสัตว์ปีก นอกจากนี้ ปริมาณเอนไซม์ ALT ของกลุ่มควบคุมมีค่าน้อยกว่าการใช้กากมันสำปะหลังหมักอาจเกิดจากในไก่ไข่กลุ่มควบคุมมีเอนไซม์ AST ในปริมาณน้อย ดังนั้นร่างกายจึงต้องทำการปรับสมดุลของเอนไซม์ทั้งสองชนิด อย่างไรก็ตามอัตราส่วนของ ALT : AST สามารถใช้บอกถึงความแตกต่างระหว่างสาเหตุของการเกิดความเสียหายที่ตับ ซึ่งจากผลการทดลองมีอัตราส่วน ALT : AST เท่ากับ 0.02, 0.03, 0.04 และ 0.04 ของอาหารแต่ละสูตร โดยอัตราส่วนระหว่าง ALT : AST ไม่ควรเกิน 1 เมื่อเซลล์ตับถูกทำลายจะมีเอนไซม์ ALT จากตับจะถูกปล่อยออกมาที่ระบบเลือดมากขึ้น

สัตว์ปีกมีการกำจัดไนโตรเจนส่วนเกินออกมาในรูปกรดยูริก เนื่องจากกรดอะมิโนที่ร่างกายไม่ต้องการจะถูกกำจัดกลุ่มอะมิโนออกโดยปฏิกริยาดีอะมิเนชั่น (deamination) และปลดปล่อยแอมโมเนียออกมา จากนั้นแอมโมเนียจะถูกเปลี่ยนเป็นยูเรียที่ตับ และส่งต่อมายังกระแสเลือดเพื่อขับออกนอกร่างกาย อย่างไรก็ตามสัตว์ปีกต้องทำการเปลี่ยนยูเรียให้อยู่ในรูปของยูริกก่อนการกำจัดออก เพื่อลดความเป็นสารพิษต่อร่างกาย ดังนั้นการทดลองนี้จึงทำการตรวจวัดปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือด เพื่อวิเคราะห์เบื้องต้นถึงความสมดุลของกรดอะมิโนในอาหารว่าตรงตามความต้องการของสัตว์มากน้อยเพียงใด หากในอาหารมีปริมาณของกรดอะมิโนที่ไม่สมดุลร่างกายสัตว์จะขับออกมาในรูปของยูเรีย ส่งผลให้มีปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดเพิ่มขึ้น (Kumta and Harper, 1961; Ranjihan, 1980) จากผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 0, 16, 24 และ 32% ต่อปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือด พบว่าปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.65, 1.46, 1.60 และ 2.20 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยทุกกลุ่มการทดลองแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เนื่องจากอาหารทดลองแต่ละสูตรมีอัตราส่วนระหว่างกรดอะมิโนจำเป็นต่อกรดอะมิโนไม่จำเป็นเพิ่มขึ้นเมื่อใช้กากมันสำปะหลังหมักมากขึ้น ดังที่กล่าวไว้ในหัวข้อที่ 4.2.1 ถึงแม้ว่าการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 32% ในสูตรอาหารจะไม่มีผลกระทบต่อการใช้ประโยชน์ได้ของไนโตรเจน (การทดลองที่ 1) โดยปริมาณของกรดอะมิโนที่ย่อยได้หรือดูดซึมได้ในอาหารสูตรกากมันสำปะหลังหมัก 32% ไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่อาจมีความสมดุลของกรดอะมิโนค่อนข้างต่ำ ซึ่งกรดอะมิโนที่ไม่สมดุลดังกล่าวบางชนิดอาจมีต่ำกว่าความต้องการหรือบางชนิดมีมากเกินความต้องการ ไก่ไข่จึงต้องมีการกำจัดกรดอะมิโนเหล่านี้ในรูปของยูเรียไนโตรเจน โดยปริมาณยูเรียไนโตรเจนในเลือดจะลดลงเมื่อความสมดุลของกรดอะมิโนที่ดูดซึมเข้าสู่ร่างกายมีค่าใกล้เคียงกับความต้องการของสัตว์

นอกจากนี้ผลการวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือดของไก่ไข่ที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 0, 16, 24 และ 32% ในสูตรอาหาร มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 89.25, 82.75, 87.25 และ 75.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งพบว่าปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือดมีค่าไม่เกินค่าเฉลี่ยของไก่ไข่ทั่วไป โดย Menge et al. (1974) รายงานว่าไก่ไข่มีปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือดเฉลี่ยเท่ากับ 120.8

มิลลิกรัมต่อลิตร จากการวิเคราะห์คาดหวังว่าเยื่อใยที่เป็นองค์ประกอบในกากมันสำปะหลังอาจมีบทบาทต่อการลดปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือด โดยเยื่อใยในอาหารทดลองแต่ละสูตรมีปริมาณสูงขึ้นตามระดับของกากมันสำปะหลังหมักที่เพิ่มขึ้น (3.51, 4.61, 5.15 และ 5.69% ตามลำดับ) ซึ่งทำให้ปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือดมีแนวโน้มลดลง แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) อย่างไรก็ตามร่างกายต้องมีการรักษาสมดุลของปริมาณคอเลสเตอรอลไว้ เนื่องจากคอเลสเตอรอลมีความสำคัญสำหรับการใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตฮอร์โมนต่าง ๆ ของร่างกาย โดยจากผลการวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือดให้ผลสอดคล้องกับปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่ที่ไม่แตกต่างกัน Sutton, Muir and Begin (1981) รายงานว่าปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่มีความสัมพันธ์กับปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือด

การศึกษาปริมาณอิมมูโนโกลบูลินในซีรัม บ่งบอกถึงภูมิคุ้มกันรวมของไก่ไข่ ซึ่งจากการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหาร พบว่าไก่ไข่ที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักทุกระดับ (0, 16, 24 และ 32%) มีค่าเฉลี่ยปริมาณอิมมูโนโกลบูลินเท่ากับ 2.44, 2.41, 2.41 และ 2.39 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) จากที่กล่าวไว้ข้างต้นเยื่อใยในกากมันสำปะหลังหมักอาจถูกใช้ประโยชน์โดยจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารส่วนท้าย จึงเกิดการหมักย่อยโดยจุลินทรีย์ และอาจส่งผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของไก่ไข่ได้ Kerr, Ziemer, Trabue, Crouse and Parkin (2006); Roberts, Xin, Kerr, Russell and Bregendahl (2007) รายงานว่าเยื่อใยสูงในอาหารสามารถลดแอมโมเนีย และลดค่าความเป็นกรดด่างในมูลซึ่งอาจเกิดจากกรดไขมันสายสั้นที่พบในมูลไก่ไข่ และอาจทำให้จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์สามารถเจริญเติบโต ผลิตกรดไขมันระเหยได้ส่งผลในการช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันในไก่ไข่ได้ โดยการตอบสนองภูมิคุ้มกันของไก่มีผลจากการเพิ่มจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ (Huang, Choi, Houde, Lee, Lee and Zhao, 2004; Kabir, Rahman, Rahman and Ahmed, 2004; Dalloul, Lillehoj, Tamim, Shellem and Doerr, 2005) นอกจากนี้จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ได้แสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของเยื่อเมือกในลำไส้เล็ก และสัดส่วนของไซโตไคน์ (cytokine) ที่กระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกัน (Chichlowski, Croom, Mcbride, Daniel, Davis and Koci, 2007) จากการทดลองใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารนั้นไม่มีผลกระทบต่อปริมาณอิมมูโนโกลบูลิน ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับสัดส่วนของประชากรจุลินทรีย์ที่ไม่เปลี่ยนแปลง เนื่องจากสัตว์มีความเป็นอยู่ที่สบาย และไม่ได้รับเชื้อโรคใด ๆ จึงไม่มีผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกัน

ตารางที่ 4.8 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ต่อค่าทางชีวเคมีของโลหิต

		Fermented cassava pulp				
	Control	**16%**	**24%**	**32%**	**SEM[1]**	**Trend[2]**
AST (U/L)	164.75	182.50	178.00	191.25	16.84	NS[3]
ALT (U/L)	4.67	6.25	8.50	9.00	0.93	NS
BUN (mg/L)	0.65	1.46	1.60	2.20	0.41	NS
Cholesterol (mg/L)	89.25	82.75	87.25	75.00	11.75	NS
Total Ig (mg/L)	2.44	2.41	2.41	2.39	0.20	NS

หมายเหตุ : [1] Standard error of mean

[2] Refer to polynomial trend analysis

[3] Not significant

4.2.6 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ต่อผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

ผลการศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* ในอาหารไก่ไข่ที่ระดับ 0, 16, 24 และ 32% ต่อผลตอบแทนเชิงเศรษฐกิจ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 4.9 โดยคำนวณจากรายได้จากการขายไข่ (บาท) ต้นทุนค่าอาหารตลอดการทดลอง (บาท) กำไรสุทธิเบื้องต้น (บาท) และต้นทุนค่าอาหารในการผลิตไข่ต่อฟอง พบว่าต้นทุนค่าอาหารทั้ง 4 กลุ่มการทดลองมีราคาเท่ากับ 14.74 14.17,13.91 และ 13.65 บาทต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งไก่ไข่ที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมัก 32% มีต้นทุนค่าอาหารตลอดการทดลองต่ำที่สุด (3,888 บาท) เมื่อเปรียบเทียบกับไก่ไข่ที่ได้รับข้าวโพดที่มีต้นทุนค่าอาหารตลอดการทดลองสูงสุด (4,251 บาท) แต่อย่างไรก็ตามต้นทุนในการผลิตไข่ต่อฟองของไก่ไข่ที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักระดับ 0, 16, 24 และ 32% มีค่าเท่ากับ 1.71, 1.69, 1.71 และ 1.78 บาทต่อฟองตามลำดับ และผลของกำไรสุทธิเบื้องต้นมีค่าเท่ากับ 1,727, 1,729, 1,630 และ 1,377 บาท ตามลำดับ ซึ่งการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 32% พบว่ากำไรสุทธิเบื้องต้นมีค่าต่ำสุด และต้นทุนในการผลิตไข่ต่อฟองมีค่าสูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ เนื่องจากมีจำนวนไข่ตลอดการทดลองน้อยที่สุดจึงส่งผลให้มีต้นทุนในการผลิตไข่ต่อฟองสูงขึ้น

ถึงแม้การศึกษาครั้งนี้พบว่าการใช้กากมันสำปะหลังหมักมีผลทำให้ราคาอาหารต่อกิโลกรัมลดลง แต่อย่างไรก็ตามต้องมีการคำนึงถึงต้นทุนในการผลิตไข่ด้วย ซึ่งจากการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 24% ให้ผลผลิตไข่ไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม และมีต้นทุนในการผลิตไข่ต่อฟองเท่ากับกลุ่มควบคุม อีกทั้งยังให้ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอาจเนื่องมาจากราคาวัตถุดิบที่ใช้ในระหว่างการทดลอง ทั้งนี้ข้าวโพดขณะที่ทำการทดลองมีราคาเท่ากับ 12.50 บาทต่อกิโลกรัม และกากมันสำปะหลังหมักมีราคา 5.40 บาทต่อกิโลกรัม ถ้าหากใน

อนาคตเมื่อข้าวโพด และกากมันสำปะหลังหมักมีส่วนต่างราคาเป็น 10 บาทต่อกิโลกรัม จะส่งผลทำให้ต้นทุนในการผลิตไข่ต่อฟองของการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 24% ลดลง และมีต้นทุนต่อฟองต่ำกว่า กลุ่มควบคุม จากผลการศึกษาสามารถนำไปเป็นแนวทางสำหรับการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ได้ เมื่อวัตถุดิบอาหารพลังงาน เช่น ข้าวโพดมีราคาสูงขึ้นหรือเกิดการขาดแคลน

กากมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีปริมาณโปรตีนต่ำ และเยื่อใยสูง เมื่อนำมาผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* จะช่วยให้ได้กากมันสำปะหลังหมักที่มีคุณค่าทางโภชนะดีขึ้น คือมีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้น และปริมาณเยื่อใยลดลง จากการศึกษาวิจัยครั้งนี้พบว่ากากมันสำปะหลังหมักสามารถใช้เป็นวัตถุดิบอาหารไก่ไข่ได้ถึงระดับ 24% โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ สมรรถนะการผลิต และคุณภาพไข่ แต่อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองพบว่าการใช้กากมันสำปะหลังหมักของการทดลองที่ 2 ใช้ได้ในปริมาณที่น้อยกว่าการทดลองที่ 1 (กากมันสำปะหลังหมัก 32% ในสูตรอาหาร) ทั้งนี้อาจมีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เช่น การใช้ประโยชน์ได้ของกากมันสำปะหลังหมัก หรือแม้แต่คุณภาพของโปรตีน ปริมาณ และสัดส่วนของกรดอะมิโนในกากมันสำปะหลังหมัก เป็นต้น

การใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 24% มีต้นทุนค่าอาหารไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ถึงแม้จะมีการเพิ่มต้นทุนในส่วนของกระบวนการหมักกากมันสำปะหลัง เนื่องจากสามารถเพิ่มระดับการใช้ในสูตรอาหารไก่ไข่ได้มากกว่ากากมันสำปะหลังปกติ และการหมักกากมันสำปะหลังยังเป็นอีกแนวทางในการเพิ่มการใช้ประโยชน์จากกากมันสำปะหลังได้มากขึ้น รวมถึงยังช่วยลดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อมได้อีกทางหนึ่ง

ตารางที่ 4.9 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่ไข่ต่อผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

		Fermented cassava pulp		
	Control	**16%**	**24%**	**32%**
จำนวนไก่ไข่เข้าการทดลอง, ตัว	48	48	48	48
อัตราการมีชีวิตรอด, %	100	97.92	97.92	95.83
จำนวนไข่ตลอดการทดลอง, ฟอง	2,491	2,432	2,354	2,190
รายได้จากการขายไข่, บาท (2.40 บาท/ฟอง)	5,978	5,837	5,650	5,265
ราคาอาหาร, บาท / กิโลกรัม	14.74	14.17	13.91	13.65
ต้นทุนค่าอาหารตลอดการทดลอง, บาท	4,251	4,108	4,021	3,888
กำไรสุทธิเบื้องต้น, บาท	1,727	1,729	1,630	1,377
ต้นทุนค่าอาหาร / ไข่ 1 ฟอง, บาท	1.71	1.69	1.71	1.78

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุป

จากการศึกษาการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของกากมันสำปะหลังโดยวิธีการหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสำหรับไก่ไข่ โดยศึกษาผลต่อการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ สมรรถนะการผลิต คุณภาพไข่ ปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดง การเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร กรดไขมันระเหยได้ และค่าทางชีวเคมีของโลหิต โดยภาพรวมสรุปได้ว่า

5.1.1 การหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อรา *A. oryzae* สามารถปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของกากมันสำปะหลังให้ดีขึ้น โดยเฉพาะโปรตีน ซึ่งกากมันสำปะหลังหมักมีปริมาณโปรตีนรวมและโปรตีนแท้เพิ่มขึ้น จาก 1.98 และ 0.98% เพิ่มเป็น 13.25 และ 12.37%

5.1.2 กากมันสำปะหลังหมักสามารถใช้เป็นวัตถุดิบในสูตรอาหารไก่ไข่ได้ถึงระดับ 24% โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ สมรรถนะการผลิต คุณภาพไข่ ปริมาณคอเลสเตอรอลในไข่แดง การเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร และค่าทางชีวเคมีของโลหิต ยกเว้นสีไข่แดงที่มีสีซีดลง นอกจากนี้กากมันสำปะหลังหมักยังมีบทบาทในการเพิ่มปริมาณการผลิตกรดอะซิติก และกรดบิวทีริกในลำไส้ใหญ่ส่วนซีกัมด้วย

5.1.3 ถึงแม้ว่าการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 24% ในสูตรอาหารให้ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามหากในอนาคตส่วนต่างของราคาข้าวโพดและกากมันสำปะหลังหมักมีมากกว่า 10 บาทต่อกิโลกรัม จะส่งผลให้การใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับดังกล่าวมีต้นทุนในการผลิตต่ำลงได้ ดังนั้นกากมันสำปะหลังหมักจึงเป็นวัตถุดิบอาหารทางเลือกอีกชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพสำหรับไก่ไข่ในยามที่ข้าวโพดขาดแคลน หรือมีราคาแพงได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 การหมักวัตถุดิบอาหารสำหรับสัตว์กระเพาะเดี่ยวที่มีการใช้ยูเรียเพื่อเป็นแหล่งไนโตรเจน นอกจากวัดปริมาณโปรตีนรวมแล้ว ควรทำการวัดปริมาณโปรตีนแท้ที่เกิดขึ้นด้วย เนื่องจากค่าดังกล่าวสามารถบ่งชี้ถึงปริมาณโปรตีนที่เกิดขึ้นจากกระบวนการทำงานของจุลินทรีย์และเป็นค่าที่สัตว์จะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างแท้จริง

5.2.2 การใช้กากมันสำปะหลังหมักควรพิจารณาถึงการเสริมสารเพิ่มสีในสูตรอาหาร หรือการใช้ร่วมกับวัตถุดิบแหล่งสารสีเพื่อเพิ่มความเข้มสีไข่แดง อีกทั้งควรใช้กากมันสำปะหลังหมักร่วมกับวัตถุดิบแหล่งสารสีเพื่อเพิ่มความเข้มสีไข่แดง อีกทั้งควรใช้กากมันสำปะหลังหมักร่วมกับวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่หลากหลายชนิด เพื่อเพิ่มความสมดุลของกรดอะมิโนในสูตรอาหาร

5.2.3 การขยายสเกลการหมักกากมันสำปะหลังให้ใหญ่ขึ้น ควรคำนึงถึงปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหมัก เช่น การเพิ่มความเข้มข้นของหัวเชื้อเพื่อช่วยให้เชื้อรา *A. oryzae* สามารถเจริญเติบโตได้เร็วและดีที่สุด อีกทั้งเนื่องจากเชื้อราดังกล่าวมีลักษณะการเจริญบนผิวหน้าของวัตถุดิบ ดังนั้นการออกแบบถังหมักให้มีใบพัดที่จะใช้กวนกากมันสำปะหลัง หัวเชื้อ และยูเรียให้เข้ากันได้อย่างทั่วถึงจะทำให้เชื้อราเจริญได้ดี สามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนได้สูง และลดการตกข้างของยูเรียได้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

รายการอ้างอิง

กรกช ฮามสุโพธิ์, ทรงศักดิ์ วัฒนชัยสรีกุล และ เพ็ญจิตร ศรีนพคุณ. (2545). การใช้เอนไซม์เพคติเนสร่วมกับเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* เพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีนในกากมันสำปะหลัง. **ว. วิศวกรรมและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยรังสิต.** 6(1): 39-46.

กรมโรงงงานอุตสาหกรรม. (2551). **กระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง.** [ออนไลน์]. ได้จาก :http://www.thailandtapiocastarch.net

กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. (2546). เทคโนโลยีของแป้ง. **มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.**

กัลยานี วุฒเศรี, เพิ่มศักดิ์ ศิริวรรณ และบัวเรียม มณีวรรณ. (2551). ผลของการใช้มันสำปะหลังหมักเชื้อรา *Amylomyces rouxii* เสริมในอาหารต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่เนื้อ. **การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 46:** (หน้า 31-38).

จรัญ ฉัตรมานพ. (2551). การผลิตโปรติเอสจาก *Aspergillus oryzae* ด้วยวิธีการหมักแบบแห้งในถังหมักแบบแพคเบด. **รายงานการวิจัย ภาควิศวกรรมเคมี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.**

ชลนิชา ทองขลิน. (2548). การคัดเลือกเชื้อรา *Aspergillus* ที่ผลิตเอนไซม์อาหารสัตว์และปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์ด้วยการเพาะเลี้ยงแบบ solid state ที่ใช้ฟางข้าวเป็นวัตถุดิบหลัก. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. **มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.**

ทวีศักดิ์ นิยมบัณฑิต, อรัญ หันพงศ์กิตติกูล และ สมเกียรติ ทองรักษ์. (2543). การใช้มันสำปะหลังหมักโปรตีนสูงในอาหารไก่กระทง. **ว. สงขลานครินทร์** (ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี). 23(1): 27-35.

ทรงศักดิ์ วัฒนชัยเสรีกุล. (2543). **อาหารสัตว์จากกากมันสำปะหลังหมัก.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธัญรัตน์ สหายา, จรัญ ฉัตรมานพ และ เพ็ญจิตร ศรีนพคุณ. (2551). การพัฒนาถังหมักแพคเบดเพื่อเพิ่มปริมาณการผลิตเอนไซม์โปรติเอสสำหรับการหมักแบบแห้ง. **ภาควิศวกรรมเคมี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.**

นันทกร บุญเกิด, สุรีลักษณ์ รอดทอง และ หนึ่ง เตียอำรุง. (2543). การเปลี่ยนแป้งมันสำปะหลังโดยกระบวนการทางชีวภาพให้เป็นผลิตภัณฑ์โปรตีนสูงเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์. **รายงานการวิจัยสาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.**

บุญศรี จงเสรีจิตต์. (2543). การผลิตเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อรา *Aspergillus oryzae*. **วารสารมหาวิทยาลัยศิลปากร ปีที่ 19-20 ฉบับที่ 2.**

ปรีดา คำศรี, ยุวเรศ เรืองพานิช, เสกสม อาตมางกูร, อรประพันธ์ ส่งเสริม และ ณัฐชนก อมรเทวภัทร. (2552). ผลของระดับกากมันสำปะหลังและรูปแบบอาหารต่อสมรรถภาพการผลิตในไก่เนื้อ. **การประชุมทางวิชาการครั้งที่ 47. สาขาสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.** หน้า 132-140.

มานิตย์ อ่อนนางใย. (2553). การผลิตเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อรา *Aspergillus oryzae* โดยใช้ผลิตผลการเกษตรราคาถูกและวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร. **ว. วิทย์ เทคโน มมส.** 29(2): 158-164.

มูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย. (2555). **ผลสำรวจมันสำปะหลัง.** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.tapiocathai.org/Mainpage.html

ยุวเรศ เรืองพานิช, อรประพันธ์ ส่งเสริม, สุกัญญา รัตนทับทิมทอง, ณัฐชนก อมรเทวภัท, สุชาติ สงวนพันธุ์, อรทัย ไตรวุฒานนท์ และ อรรถวุฒิ พลายบุญ. (2550). การใช้ประโยชน์ของกากมันสำปะหลังในการนำมาเป็นอาหารสัตว์ปีก. **รายงานการวิจัยจากคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.**

เยาวมาลย์ ค้าเจริญ และ สาโรช ค้าเจริญ. (2543). คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของข้าวโพดเทียบกับการผลิตข้าวโพดวิทยาศาสตร์จากมันสำปะหลัง. **สาส์นไก่และการเกษตร.** 48(8): 44-51.

วิรชัย พลโรม อุษา กลิ่นหอม และ ชูศรี ตลับมุข. (2536). การใช้กากมันสำปะหลังจากการผลิตแอลกอฮอล์ในอาหารไก่ไข่. **ว. เกษตรศาสตร์.** 27: 177-185.

ศรีสุดา ศิริเหล่าไพศาล, เยาวมาลย์ ค้าเจริญ และ บัณฑิตย์ เต็งเจริญกุล. (2554). ผลของการเสริมเมลามีนหรือยูเรียฟอมาดีไฮด์หรือส่วนผสมของทั้งสองชนิดต่อสมรรถนะการผลิตในไก่ไข่. **แก่นเกษตร** 39: 10-16.

สกล คำไข่. (2547). การเป็นพิษของกรดไฮโดรไซยานิค. **วิจัยและส่งเสริมวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้.** 21(2) : 43-51.

สาโรช ค้าเจริญ. (2547**). อาหารและการให้อาหารสัตว์ไม่เคี้ยวเอื้อง. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.**

สาโรช ค้าเจริญ และ เยาวมาลย์ ค้าเจริญ. (2527). การใช้มันสำปะหลังในอาหารสัตว์ สุกร เป็ด และไก่. **วารสารเผยแพร่ ฉบับที่ 1 ชุมนุมสหกรณ์ผู้เลี้ยงสุกร จำกัด. กรุงเทพมหานคร.**

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2550). **เนื้อที่เพาะปลูกมันสำปะหลังของประเทศไทย.** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.oae.go.th/main.php

สุนันทา วงศ์ปิยชน, ละม้ายมาศ ยังสุข และ พูลศรี สว่างจิต. (2550). การผลิตไวน์ข้าวจากเชื้อบริสุทธิ์ *Aspergillus oryzae* และ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ต่าง ๆ **.** ผลงานวิจัยและพัฒนาการแปรรูปผลิตภัณฑ์ข้าว. **ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี.**

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. (2545). จุลชีววิทยาทางอาหาร. **ข้อมูลทางบรรณานุกรมของหอสมุดแห่งชาติ.**

สุเมธ ไตรพฤกษชาติ, ยุวเรศ เรื่องพานิช, เสกสม อาตมางกูร, อรประพันธ์ ส่งเสริม และ สุกัญญา, รัตนทับทิมทอง. (2552). ผลของระดับกากมันสำปะหลังในอาหารไก่ไข่ต่อสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพไข่. **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47.** (หน้า 165-173).

สมเจต ใจภักดี. (2530). การศึกษาวิธีการหมักมันสำปะหลัง และการนำมันสำปะหลังหมักมาใช้ในอาหารไก่กระทงและนกกระทา. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. **สาขาสัตวศาสตร์. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.**

เสริมศักดิ์ มานะเลิศสกุล. (2546). การผลิตอาหารสัตว์จากกากมันสำปะหลังและกากน้ำตาลโดยการหมักแบบแห้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. **มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์**

เสริมศักดิ์ มานะเลิศสกุล และ เพ็ญจิตร ศรีนพคุณ. (2545). การผลิตอาหารสัตว์จากกากมันสำปะหลังและกากน้ำตาล โดยใช้เชื้อรา *Rhizopus oligosporus* และ *Rhizopus* sp. 26R. **การประชุมวิชาการวิศวกรรมเคมีและเคมีประยุกต์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 12.**

เสกสม อาตมางกูร, ณัฐชนก อมรเทวภัทร, เนรมิต สุขมณี สุกัญญา, รัตนทับทิมทอง, ยุวเรศ เรื่องพานิช, ทิพย์มนต์ ใยเกษ และ วรรณี ชิงปรีชา. (2550). การใช้ประโยชน์ของกากมันสำปะหลังในการนำมาเป็นอาหารสุกร. **รายงานการวิจัย จากสำหนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.**

อนันตภัทร บุญยะกมล และ วิชัย ลีลาวัชรมาศ. (2548). การใช้กากมันสำปะหลังผลิตโปรตีนเซลล์เดียวเพื่อใช้ผสมในอาหารสัตว์. **วารสารวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมไทย ปีที่ 19 ฉบับที่ 2**. หน้า 41-50.

อุษณีย์ภรณ์ สร้อยเพ็ชร์, เทอดศักดิ์ คำเหม็ง, ฉลอง วชิราภากร และ วิชัย ลีลาวัชรมาศ. (2550). การใช้มันสำปะหลังหมักแบบกึ่งแห้งด้วยเชื้อรา *Aspergillus niger* เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ในสูตรอาหารเป็ดเนื้อ. **การประชุมวิชาการสัตวศาสตร์.** ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ฤทัยรัตน์ โต้งกระโทก. (2553). ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักต่อการย่อยได้สมรรถนะการเจริญเติบโต และคุณภาพซากของไก่เนื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. **มหาวิทยาลัยเทคโลยีสุรนารี.**

อุทัย คันโธ. (2546). การผลิตมันเส้นคุณภาพดีเกรดอาหารสัตว์. **สมาคมผู้ผลิตมันสำปะหลังภาคตะวันออกเฉียงเหนือ.**

อุทัย คันโธ. (2529). อาหารและการผลิตอาหารเลี้ยงสุกร และสัตว์ปีก. ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติ. **ภาควิชาสัตวบาล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.**

Adamafio, N. A., Sakyiamah, M., and Tettey, J. (2010). Fermentation in cassava *(Manihot esculenta* Crantz) pulp juice improves nutritive value of cassava peel. **Afr. J. Biochemis. Res.** 4(3): 51-56.

Aina, A. B. J., and Animo, O. F. (1997). Substitution of maize with cassava and sweet popato meal as the energy source in the ration of layer diets. **Pertanika. J. Trop. A.gri**. 74 (4): 299-302.

Akindahunsi, A. A., Oboh, G., and Oshodi, A. A. (1999). Effect of fermenting cassava with *Rhizopus oryzae* on the chemical composition of its flour and gari products. Miramare - Trieste.

A. O. A. C. 2000. **Offcial Methods of Analysis.** 17th ed. Assoc. Anal. Chem., Arlington, VA.

Bedford, M.R. and J.D. Summers. 1985. Influence of the ratio of essential to nonessential amino acids on performance and carcass composition of the broiler chick. **Br. Poult. Sci.** 26: 483-491.

Begum, F., Absar, N., and Shah Alam, M. (2009). Purification and characterization of extracellular cellulase from *A. oryzae* ITCC-4857.01. **J. of Appl. Sci. Res.** 5(10): 1645-1651.

Belewu, M.A., and Babalola, F.T. (2009). Nutrient enrichment of waste agricultural residues after solid state fermentation using *Rhizopus oligosporus*. **J. Appl. Biosci.** 13: 695-699.

Belyavin, C. G., and Marangos, A. G. (1987). Natural products for egg yolk pigmentation, pp. 47-48.

Boonnop, K., Wanapat, M., Nontaso, N., and Wanapat, S. (2009). Enriching nutritive vatlue of cassava root by yeast fermentation**. J. Agric. Sci.** 66: 629-633.

Bowland, J. P. (1972). Unprocessed rapeseed treated with propionic acid in diet of growing pig: performance, energy and protein, digestibility and nitrogen retention, carcass measurement, and fatty acid composition of back fat. **Can. J. Anim. Sci.** 52: 553.

Chauynarong, N., Iji, P. A., and Kanto, U. (2010). Optimum of cassava pulp in diets for layers. **Aust. Poult. Sci. Symp.** 12: 136-139.

Chichlowski, M., Croom, J., Mcbride, B. W., Daniel, L., Davis, G., and Koci, M. D. (2007). Direct-fed microbial primalac and salinomycin modulate whole-body and intestinal oxygen consumption and intestinal mucosal cytokine production in the broiler chick. **Poult. Sci.** 86: 1100-1106.

Chotikatum, S., Kramomthong, I., and Angkanaporn, K. (2009). Effect of medium chain fattyacid, organic acid and fruto-oligosaccaride on cecal *Salmonella enteritidis* colonization and intestinal parameters of broilers. **Thai J. Vet. Med.** 39(3): 245-258.

Chumpawadee, S., Chantiratikul, A., and Satsweesuk, S. (2009). Effect of dietary inclusion of cassava yeast as probiotic source on egg production and egg quality of laying hens. **J. Poult. Sci. Res.** 8(2): 195-199.

Chutmanop, J., Chuichlcherm, S., Chisti, Y., and Srinophakun, P. (2008). Protease production by *Aspergillus oryzae* in solid-state fermentation using agroinduatrial substrates. **J. Chem. Technol. and Biot.** 83: 1012-1018.

David, F. A. (2011). Effect of *terminalia catappa* fruit meal fermented by *Aspergillus niger* as replacement of maize on growth performance, nutrient digestibility, and serum biochemical profile of broiler chickens. **Biotech. Res. International**. 10: 1-6.

Dalloul, R. A., Lillehoj, H. S., Tamim, N. M., Shellem, T. A., and Doerr, J. A. (2005). Induction of local protective immunity to *Eimeria acervulina* by a *Lactobacillus*-based probiotic. **Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.** 28: 351-361.

Donalson, L. M., Kim, W. K., Chalova, V. I., Herrera, P., Mc-Reynolds, J. L., Gotcheva, V. G., Vidanovic, D., Woodward, C. L., Kubena, L. F., Nisbet, D. J., and Ricke , S. C. (2008). In vitro fermentation response of laying hen cecal bacteria to combinations of fructooligosaccharide prebiotics with alfalfa or a layer ration. **Poult. Sci.** 87:1263-1275.

Eruvbetine, D. E., and Oguntona, B. (1997). Unpeel cassava root meal in diets for laying hen. **Trop. Agri.** 74 (4): 299-302.

Ezekiel1, O. O., Aworh, O. C., Blaschek, H. P., and Ezeji, T. C. (2010). Protein enrichment of cassava peel by submerged fermentation with *Trichoderma viride* (ATCC 36316). **Afr. J. Biotechnol.** 9(2): 187-194.

Feng, J., Liu, X., Xu, Z. R., Liu, Y. Y., and Lu, Y. P. (2007a). Effects of *Aspergillus oryzae* 3.042fermented soybean meal on growth performance and plasma biochemical parameters in broilers. **J. Anim. Feed Sci. and Tech.** 134: 235-242.

Feng, J., Liu, X., Xu, Z. R., Wang, Y. Z., and Liu, J. X. (2007b). Effects of fermented soybean meal on digestive enzyme activities and intestinal morphology in broilers. **Poult. Sci.** 86: 1149-1154.

Figueiredo, G. O., Bertechini, A. G., Fassani, E. J., Rodrigues, P. B., Brito, J. A. G., and Castro, S. F. (2012). Performance and egg quality of laying hens fed with dietary levels of digestible lysine and threonine. **Arq. Bras. Med. Vet. Zooted.** 64(3): 743-750.

Francis, F., Sabu, A., Nampoothiri, K. M., Szakacs, G., and Pandey, A. (2002) Synthesis of α-amylase by *Aspergillus oryzae* in solid-state fermentation. **J. Basic. Microb.** 42: 320-326.

Jimenez-Moreno, E., Gonzalez-Alvarado, J. M., Gonzalez-Sanchez, D., Lazaro, R., and Mateos, G. G. (2010). Effect of type and partical size of dietary fiber on growth performance and digestive traits of broilers from 1 to 21 days of ages. **Poult. Sci.** 89: 2197-2212.

Heeok, H., Abanto, O. D., Kim, K. H., Nam, K. T., Son, J. Y., Jung, W. S., Nam, I. S., and Hwang, S. G. (2010). The effects of dietary soybean fermented with *Aspergillus oryzae* or *Bacillus natto* on egg production and egg lipid composition in layer. **J. Food Sci. Anim. Resour.** 30: 609-616.

Hetland, H., and B. Svihus. (2001). Effect of oat hulls on performance, gut capacity and feed passage time in broiler chickens. **Br. Poult. Sci.** 42: 354-361.

Huang, M. K., Choi, J. L., Houde, R., Lee, J. W., Lee, B., and Zhao, X. (2004). Effects of *lactobacilli* and an acidophilic fungus on the production in Nigeria. **World J. Microbiol. Biotechnol**. 20: 51-56.

Intarapichet, K., Suksombat, W., and Maikhunthod, B. (2008). Chemical compositions, fatty acid, collagen and cholesterol content of Thai hybrid native and broiler chicken meats **Poult. Sci.** 45: 7-14.

Kabir, S. M. L., Rahman, M. M., Rahman, M. B., and Ahmed, S. U. (2004). The dynamics of probiotics on growth performance and immune response in broilers. **Int. J. Poult. Sci.** 3: 361-364.

Kamran, Z., Sarwar, M., Nisa, M., Nadeem, M. A., Mahmood, S., Babar, M. E., and Ahmed, S. (2008). Effect of low-protein diets having constant energy to protein ratio on performance and carcass characteristics of broiler chickens from one to thirty-five days of age. **Poult. Sci.** 87: 468-474.

Kerr, B. J., Ziemer, C. J., Trabue, S. L., Crouse, J. D., and Parkin, T. B. (2006) Manure composition of swine as affected by dietary protein and cellulose concentrations. **J. Anim. Sci.** 84: 1584-1592.

Khempaka, S., Molee, W., and Guillaume, M. (2009). Dried cassava pulp as an alternative feedstuff for broilers: effect on growth performance, carcass traits, digestive organs, and nutrient. **J. Poult. Sci. Res.** 18: 487-493.

Kim, J. H., Hong, S. T., Lee, H. S,. and Kim, H. J. (2004). Oral administration of pravastatin reduces egg cholesterol but not plasma cholesterol in laying hens. **Poult. Sci.** 83: 1539-1543.

Kumta, U. S., and Harper, A. E. (1961). Effects of dietary additions of amino acid on food intake and blood urea concentration of rats fed low protein diet containing fibrin. **J. Nutr.** 73: 139-147.

Leeson, S., and Summers, J. D. (1997). Commercial poultry nutrition. Ontario, Canada. pp 143-205.

Liu, X., Zhao, H. L., Thiessen, S., House, J. D., and Jones, P. J. H. (2010). Effect of plant sterol-enriched diets on plasma and egg yolk cholesterol concentrations and cholesterol metabolism in laying hens. **Poult. Sci.** 89: 270-275.

Lopes-Lutz, D., Alviano, D. S., Alviano, C. S., and Kolodziejczyk, P. P. (2008). Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. **Phytochem.** 69: 1732-1738.

Menge, H., Littlefield, L. H., Frobish Andb, L. T., and Weinl, T. (1974). Effect of cellulose and cholesterol on blood and yolk lipids and reproductive efficiency of the hen. **J. Nutr**. 104: 1554-1566.

National Research Council. (1994). **Nutrient Requirements of Poultry.** 9th ed. National Academy Press, Washington, DC.

Oboh, G. (2006). Nutrient enrichment of cassava peels using a mixed culture of *Saccharomyces cerevisae* and *Lactobacillus spp* solid media fermentation techniques. **Electronic J. Biotechnol.** 9: 46-49.

Oboh, G., Akindahunsi, A. A., and Oshodi, A. A. (2002). Nutrient and anti-nutrient contents of Aspergillus niger-fermented cassava products (flour and garri). **J. Food Compos. Anal.** 15: 617-622.

Oboh, G., and Akindahunsi, A. A. (2005). Nutritional and toxicgical evalution of *Saccharomyces cerevisiae* fermented cassava flour. **J. Food Compost Anim.** 18: 731-738.

Oboh, G., and Elusiyan, C. A. (2007). Changes in the nutrient and anti-nutrient content of microfungi fermented cassava flour produced from low-and medium-cyanide vaiety of cassava tubers. **Afr. J. Biotechnol.** 6(18): 2150-2157.

Onifade, A. A., Tewe, O. O., Okunola, O., and Fanimo, A. O. (1999). Performance of laying pullets fed on cereal-free diets based on maize offal, cassava peel and reject cashew nut meal.

Brit. Poult. Sci. 40(1): 84-87.

Ranjihan, S. K. (1980). **Animal Nutrition in Topics (2 nd ed.).** Vikas Publishing House

Roberts, S. A., Xin, H., Kerr, B. J., Russell, J. R., and Bregendahl, K. (2007). Effects of dietary fiber and reduced crude protein on ammonia emission from laying-hen manure. **Poult. Sci.** 86: 1625-1632.

Rowe, A., Macedo, F.A.F., Visentainer, J.V., Souza, N.E., and Matsu-shita, M. (1999). Muscle composition and fatty aid profile in lambs fattened in drylot or pasture. **Meat Science.** 51: 283-288.

Salami, R. I., and Odusi, A. A. (2003). Evaluation of processed cassava peel meals as substitutes for maize in diets of layers. **International J. Poult. Sci.** 2(2): 112-116.

Sarikhan, M., Shahryar, A. H., Gholizadeh, B., Hosseinzadeh, M. H., Beheshti, B., and Mahnoodnejad, A. (2010). Effects of insoluble fiber on growth performance, carcass traits and ileum morphological parameters on broiler chick males. International. **J. Agriculture & Biology.** 10: 531-536.

SAS (1996) SAS Procedures Guide, Release 6.3 Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC: 441.

Sibbald, I. R. (1976). A bioassay for true metabolizable energy in feedstuffs. **Poult. Sci.** 55: 303-308.

Sriroth, K., Chollakup, R., Chotineeranat, S., Piyachomkwan, K., and Oates, C. G. (2000). Processing of cassava waste for improve biomass utilization. **Bioresour. Technol.** 71: 63-69.

St-Onge, M. P., Farnworth, E. R., and Jones, P. J. H. (2000). Consumption of fermented and nonfermented dairy products: Effects on cholesterol concentrations and metabolism. **Am. J. Clin. Nutr**. 71: 674-681.

Suksombat, W., Lounglawan, P., and Noosen, P. (2006). Energy and protein evaluation of five feedstuffs used in diet in which cassava pulp as main energy source for lactating dairy cows. **J. Sci. Technol**. 14: 99-107.

Sutton, C. D., Muir, W.M., and Begin, J. J. (1981). Effect of fiber on cholesterol metabolism in the *Coturnix* quail. **Poult. Sci.** 60: 812-817.

Tang, D. F., Ru, Y. J., Song, S. Y., Choct, M., and Iji, P. A. (2012). The effect of cassava chips, pellets, pulp and maize based diets on performance, digestion and metabolism of nutrients for broilers. **J. Anim. Veterinary Advances.** 11(9): 1332-1337.

Tester, R. F., Karkalas, J., and Qi, X. (2004). Starch-composition, fine structure and architecture. **Elsevier Science.** 39: 151-165.

Thongkratok, R., Khempaka, S., and Molee, W. (2010). Protein enrichment of cassava pulp using microorganisms fermentation techniques for use as an alternative animal feedstuff. **J. Anim. Veterinary Advances**. 9(22): 2859-2862.

Valenzuela, A., Sanhueza, J., and Nieto, S. (2003). Cholestreol oxidation: health hazard and role of antioxidants in prevention. **Biol Res** 36: 291-302.

Van Soest, P. J. (1982). Nutritional ecology of the ruminant. O & B Books Inc., Corvallis, OR.

Widyaratne, G. P., and Drew, M. D. (2011). Effects of protein level and digestibility on the growth and carcass characteristics of broiler chickens. **Poult. Sci.** 90: 595-603.

Yeoh, H. H. (1998). Monitoring the cyanogenic potential of cassava: the trend towards biosensor development. **Elsevier Science.** 17: 234-240.

Zambare, V. (2010). Soli state fermentation of *Aspergillus oryzae* for glucoamylase production on agro residues. **Int J Life Sci.** 4: 16-25.

Zamora, R. G., and Veum, T. V. (1978). The nutritive value of dehulled soybeans fermented with *Aspergillus oryzae* or *Rhizopus oligosporus* as evaluated by rats. **J. Nutr.** 1333-1339.

Zamora, R. G., and Veum, T. V. (1979). Whole soybeans fermented with *Aspergillus oryzae* and *Rhizopus oligosporus* for growing ping. **J. Anim. Sci.** 48: 63-68.

Zheng, L., Oh, S. T., Jeon, J. Y., Moon, B. H., Kwon, H. S., Lim, S. U., An, B. K., and Kang, C. W. (2012). The dietary effects of fermented *Chlorella vulgaris* (CBT) on production performance, liver lipids and intestinalm in laying hens. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.** 25(2): 261-266.

ภาคผนวก

วิธีการดำเนินงานในห้องปฏิบัติการ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

1. การวิเคราะห์พลังงานใช้ประโยชน์ได้จริงของกากมันสำปะหลังหมัก (true metabolizable energy) (Sibbald, 1976)

วัสดุและอุปกรณ์

1. ไก่ไข่
2. กรงขังเดี่ยว (metabolic cage)
3. กรวยสำหรับ Force feeding

วิธีการทดลอง

1. ใช้ไก่ไข่พันธุ์อีซ่า บราวน์ น้ำหนักประมาณ 2 กิโลกรัม แยกขังในกรงขังเดี่ยวและทำการอดอาหารเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แต่ไม่อดน้ำ

2. เมื่อครบกำหนดแยกไก่ไข่ออกเป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 จะทำการอดอาหาร และกลุ่มที่ 2 ทำการ Force feeding โดยใช้วัตถุดิบอาหารจำนวน 20 กรัม สอดกรวยจากปากของไก่ไปยังกระเพาะพักเทวัตถุดิบอาหารลงไปให้ถึงกระเพาะพักทั้งหมด

3. เมื่อครบเวลา 24 ชั่วโมง หลังการ Force feeding จึงทำการเก็บมูลทั้งหมดไปอบแห้งและบดเพื่อนำไปวัดค่าพลังงานโดยใช้เครื่อง Bomb calorimeter

วิธีการคำนวณ

$$\mathbf{TME\ (kcal/g) = [(G.E._f \times X) - (Y_{ef} - Y_{cc})] / X}$$

โดย $G.E._f$ = ค่าพลังงาน Gross energy ของวัตถุดิบอาหาร (kcal/g)

Y_{ef} = ค่าพลังงาน Gross energy ของมูลในไก่ที่ได้รับการ Force feeding

Y_{cc} = ค่าพลังงาน Gross energy ของมูลในไก่ที่ไม่ได้รับการ Force feeding

X = น้ำหนักวัตถุดิบอาหารที่ใช้ Force feeding

2. การวิเคราะห์หาแอมโมเนียคัลไนโตรเจน (ammoniacal nitrogen) ในกากมันสำปะหลังหมัก

เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (NPN) ที่มีอยู่ในวัตถุดิบ เพื่อใช้ในการคำนวนหาปริมาณโปรตีนแท้ (true protein)

วัสดุและอุปกรณ์

1. เครื่องกลั่นไนโตรเจน
2. หลอดกลั่น (kjeldahl flask)

3. ขวดรูปชมพู่ 250 มิลลิลิตร

4. กระดาษกรอง Whatman No 1

5. กรวย

6. บิวเรต

สารเคมี

1. แมกนีเซียมอ๊อกไซด์ (MgO)

2. กรดบอริก 4% (4% Boric acid)

3. สารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก (Std. HCl 0.01 N)

4. เมทิลเรด

ขั้นตอนการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างจำนวน 5 กรัม ใส่ในฟลาสค์เติมน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลตร คนให้เข้ากันใช้เวลา 10 นาที

2. จากนั้นกรองตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง Whatman No 1 ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 30 มิลลิลิตร โดยทำการล้างตะกอน 3 ครั้ง

3. นำน้ำตัวอย่างที่กรองได้ถ่ายลงในหลอดกลั่น เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 200 มิลลิลตร และเติมแมกนีเซียมอ๊อกไซด์จำนวน 5 กรัม

4. นำไปกลั่นโดยใช้เครื่องกลั่นหาไนโตรเจน ใช้กรดบอริก 4% เป็นตัวจับแอมโมเนียที่ปลายเครื่องกลั่น โดยเติมกรดบอริก 4% ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาสค์ และหยดเมทิลเรด 2 - 3 หยด แล้วนำเข้าเครื่องกลั่นไนโตรเจน

5. สารละลายที่ได้จากการกลั่นนำมาไตรเตรทกับ Std. HCl 0.01 N

วิธีการคำนวณ

$$\%\text{Nitrogen} = [(S - B) \times 0.014 \times N \times 100] / W$$

S = จำนวน Std. HCl 0.01 N ที่ใช้ไตรเตรทตัวอย่าง

B = จำนวน Std. HCl 0.01 N ที่ใช้ไตรเตรท blank

N = Normality ของ Std. HCl

W = น้ำหนักตัวอย่าง

$$\%\text{True protein} = 6.25 (X-R)$$

X = ปริมาณ %Nitrogen ของน้ำหนักทั้งหมดของตัวอย่าง

R = ปริมาณ %Ammoniacal nitrogen ของน้ำหนักทั้งหมดของตัวอย่าง

3. การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ 2 แบบ คือ การต่ออายุของเชื้อจุลินทรีย์เพื่อเก็บเชื้อเป็น Stock culture คือ เชื้อรา *A. oryzae* และการเพิ่มจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เพื่อตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์จากตัวอย่างของ Digesta บริเวณซีกัม ได้แก่ *E. coli*, *Lactobacillus spp.* และ *Bifidobacterium* โดยขั้นตอนต่าง ๆ จะทำในสภาพที่ปลอดเชื้อ

3.1 การเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus oryzae*

3.1.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus oryzae*

ในการทดลองใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป โดยเตรียมอาหารตามรายละเอียดที่ระบุไว้ข้างขวด และเตรียมตามความเหมาะสมของเชื้อรา *A. oryzae*

วัสดุและอุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ (Potato Dextrose Broth)
2. ฟลาสค์สำหรับบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ
3. หลอดทดลองฝาเกลียว
4. หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave)
5. น้ำกลั่น
6. แผ่นให้ความร้อน (hot plate)

ขั้นตอนการเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อรา *A. oryzae*

เป็นการเตรียมอาหารแบบหลอดอาหารแข็ง (agar tube) โดยใช้อาหารสำเร็จรูป Potato Dextrose Broth (PDB) จำนวน 24 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร พร้อมกับการเติม Agar powder 1.5 - 2% เพื่อทำให้อาหารแข็ง และเหมาะสมกับการเจริญของเชื้อรา ที่เตรียมในหลอดที่มีผิวหน้าลาดเอียง หรือเรียกว่า Slant agar โดยมีวิธีการเตรียมดังนี้

1.1 การเตรียมหลอดทดลองฝาเกลียวล้างทำความสะอาด และอบให้แห้ง

1.2 เทอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ลงในหลอดประมาณ ¼ ของหลอด ระวังอย่าให้อาหารเลี้ยงเชื้อเปื้อนปากหลอด จากนั้นปิดฝาหลอดให้สนิดแล้วคลายเกลียวออกครึ่งรอบ

1.3 จากนั้นนำหลอดอาหารไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121ºC เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนดนำหลอดอาหารออกมาทิ้งไว้ประมาณ 15 นาที แล้วจึงนำหลอดอาหารไปวางเอียงทำมุมที่พื้นราบในตู้เขี่ยเชื้อ เมื่ออาหารเอียงแข็งแล้วจึงปิดฝาเกลียวให้สนิดเพื่อป้องกันการปนเปื้อน สำหรับ Slant agar ที่เตรียมไว้สามารถนำไปเก็บในตู้เย็น 4ºC ได้เป็นเวลา 7 วัน

1.4 หลอดอาหารเอียงสามารถนำไปใช้เลี้ยงเชื้อได้ และใช้ในการเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อจุลินทรีย์ในการทำหัวเชื้อ

3.1.2 การขยายและการเก็บรักษาเชื้อรา *Aspergillus oryzae*

การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์จะใช้ในการเพิ่มจำนวนเชื้อ และต่ออายุของเชื้อจุลินทรีย์เพื่อเก็บเชื้อเป็น Stock culture วิธีการเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์มีหลักการที่สำคัญ คือ การหยุดหรือการลดการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยการควบคุมปัจจัยที่สำคัญสำหรับการเจริญเติบโต เช่น การจำกัดสารอาหาร น้ำ อากาศ และอุณหภูมิ อย่างไรก็ตามการเก็บรักษาเชื้อต้องทำให้เชื้อมีลักษณะคงเดิมมากที่สุด ไม่เปลี่ยนแปลงลักษณะทางพันธุกรรม และเชื้อต้องมีชีวิตรอด วัตถุประสงค์ในการเก็บรักษาเชื้อรา *A. oryzae* เพื่อให้มีชีวิตรอดได้นาน และเป็นการต่ออายุในการเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ที่จะนำไปใช้ในกระบวนการหมักกากมันสำปะหลัง

วัสดุและอุปกรณ์

1. หลอดอาหารแข็ง (slant agar)
2. ต้นเชื้อรา *Aspergillus oryzae*
3. ลวดเขี่ยเชื้อ (loop)
4. ตะเกียงแอลกอฮอล์ 70 - 85%
5. ตู้เขี่ยเชื้อ (laminar air flow)
6. ตู้บ่มเชื้อ (incubator)

ขั้นตอนในการต่อเชื้อ *A. oryzae* จะต้องทำในสภาพที่ปลอดเชื้อ ซึ่งขั้นตอนต่าง ๆ จะทำในตู้เขี่ยเชื้อเพื่อป้องกันการปนเปื้อน โดยมีวิธีการดังนี้

1. นำลวดเขี่ยเชื้อไปลนไฟจนลวดร้อนแดงตลอดอัน จากนั้นทิ้งลวดไว้ให้เย็น (โดยห้ามวางลวดเขี่ยเชื้อบนพื้น)

2. ใช้ลวดเขี่ยเชื้อแตะเชื้อรา *A .oryzae* จาก Stock culture และนำเชื้อรา *A. oryzae* ไปขีดลาก (steak) บน Slant agar ที่เตรียมไว้ ซึ่ง *A. oryzae* ใช้อาหาร PDA

3. นำหลอดที่เขี่ยเชื้อแล้วไปบ่มที่อุณหภูมิ 30ºC เป็นเวลา 3 วัน ได้เชื้อราที่เจริญเติบโตซึ่งสังเกตุได้จากสีเหลืองของเชื้อ และจะค่อยๆ เจริญต่อจนเห็นเป็นสีเขียว

4. เมื่อเชื้อรา *A. oryzae* เจริญเติบโตแล้วจึงสามารถนำไปใช้เป็นต้นเชื้อได้ และนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4ºC เพื่อการเก็บรักษาได้

3.2 การนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่เพาะบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

การตรวจนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli*, *Lactobacillus spp*., และ *Bifidobacterium* ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยใช้วิธีการทำให้เชื้อกระจายบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (spread plate technique) เป็นการตรวจนับจุลินทรีย์เฉพาะที่มีชีวิตอยู่จริง และสามารถเพิ่มจำนวนเป็นจุดโคโลนีได้ โดยการนับที่จะให้ผลที่แม่นยำเมื่อจานเพาะเชื้อมีเชื้ออยู่ระหว่าง 30 - 300 โคโลนี

วัสดุและอุปกรณ์

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ
2. ฟลาสค์สำหรับบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ
3. จานเพาะเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว
4. น้ำกลั่น
5. แผ่นให้ความร้อน (hot plate)
6. หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave)
7. ไมโครปิเปตต์ขนาด 0.1 และ 1.0 มิลลิลิตร
8. Vortex
9. ตะเกียงแอลกอฮอล์ 70 - 85%
10. ตู้บ่มเชื้อ (incubator)

3.2.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ *E. coli*, *Lactobacillus spp*., และ *Bifidobacterium*

1. Mac CONKEY-Agar (MCK agar) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อคัดเลือกเฉพาะสำหรับให้เชื้อบางชนิดขึ้น (selective medium) ใช้ทดสอบหาเชื้อ *E. coli* สามารถเตรียมได้โดยชั่ง MCK อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป 50 กรัมต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร ใส่ลงในฟลาสค์ เติม agar 15 กรัมละลายส่วนประกอบทั้งหมดให้เข้ากัน จากนั้นปิดฝาฟลาสค์ด้วยฟรอยด์ และนำ MCK agar ไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121ºC เป็นเวลา 15 นาที จึงนำมาเทลงในจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้ว

2. Lactobacillus MRS Broth (MRS broth) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่คัดเลือกเฉพาะใช้ทดสอบหาเชื้อ *Lactobacillus spp*. สามารถเตรียมได้โดยชั่ง MRS broth อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป 55.15 กรัม และเติม agar 15 กรัม ใส่ในฟลาสค์เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นละลายส่วนประกอบทั้งหมดให้เข้ากันปิดฝาฟลาสค์ด้วยฟรอยด์ และนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121ºC เป็นเวลา 15 นาที จึงนำมาเทลงในจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

3. *Bifidobacterium* ใช้อาหาร Difco™ Differential Reinforced Clostridial Agar สามารถเตรียมได้โดยชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป 42.5 กรัม และเติม agar 15 กรัม ใส่ในฟลาสค์เติม

น้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นละลายส่วนประกอบทั้งหมดให้เข้ากันปิดฝาฟลาสค์ด้วยฟรอยด์ และนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121ºC เป็นเวลา 15 นาที จึงนำมาเทลงในจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

3.2.2 การนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์แบบ Colony plate count

การนับจำนวนจุลินทรีย์ด้วยวิธีการเลี้ยงเชื้อโดยใช้เทคนิค Dilution plate count เป็นวิธีที่เจือจางเชื้อหรือตัวอย่างด้วยสารละลายน้ำเกลือ 0.85% (diluents; ประกอบด้วย NaCl 8.5 กรัม น้ำ DI 1,000 มิลลิลิตร) เจือจางลงลำดับละ 10 เท่า ทุกขั้นตอนจะต้องทำภายใต้สภาพที่ปลอดเชื้อโดยมีขั้นตอนดังนี้

1. ชั่งตัวอย่าง Digesta บริเวณซีกัมของไก่ไข่จำนวน 1 กรัม เติมสารละลาย diluents ปริมาตร 9 มิลลิลิตร จะได้สารละลายเจือจางเท่ากับ 1 : 10 เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex

2. จากนั้นดูดสารละลายเจือจาง 1 มิลลิลิตร ใส่สารละลาย diluents ปริมาตร 9 มิลลิลิตร จะได้สารละลายเจือจ่างเท่ากับ 1 : 10^1 และทำการเจือจางต่อไปจนได้สารละลายเจือจ่างเท่ากับ 1 : 10^6

3. ใช้ไมโครปิเปตต์ดูดสารละลาย 0.1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ (spread plate)

4. การบ่มเชื้อ โดยเชื้อ *E. coli* บ่มที่อุณหภูมิ 37ºC ในสภาวะที่มีออกซิเจนเป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับการบ่มเชื้อ *Lactobacillus spp.* และ *Bifidobacterium* บ่มที่อุณหภูมิ 37ºC ในสภาวะไร้ออกซิเจนเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดจึงทำการตรวจนับเชื้อโดยการนับจำนวนโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

วิธีการคำนวณ

ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ (cfu/ml)

= (จำนวนโคโลนีที่นับได้ × ระดับความเจือจาง) × (1 / ปริมาณตัวอย่าง)

4. การวิเคราะห์กรดไขมันระเหยได้ (Zdunczyk et al., 2005)

นำ Digesta ที่ได้จากบริเวณซีกัมมาวิเคราะห์หากรดไขมันระเหยได้ (acetic, propionic และ butyric) โดยใช้ Formic acid เป็นตัวสกัดกรดไขมันจาก Digesta และใช้เครื่อง Gas chomatography (GC) เพื่อแยกและตรวจสอบปริมาณกรดไขมันระเหยได้แต่ละชนิด

วัสดุและอุปกรณ์

1. เครื่องชั่ง

2. ไมโครทิว

3.ไมโครปิเปตต์ 200 ไมโครลิตร

4. Vortex

5. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)

6. ขวด Vial

สารเคมี

1. Formic acid

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่าง Digesta จำนวน 0.2 กรัม เติมสาร Formic acid จำนวน 200 ไมโครลิตร ผสมตัวอย่างให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex

2. นำตัวอย่างที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 rpm 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4ºC

3. ดูดส่วนใสด้านบนมาใส่ในขวด Vial สีชา

4. นำตัวอย่างในขวด Vial ไปฉีดด้วยเครื่อง Gas chromatography

5. การวิเคราะห์ภูมิคุ้มกันรวม (Total Ig)

วัสดุและอุปกรณ์

1. ไมโครปิเปตต์

2. ไมโครทิว

3. Vortex

4. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)

5. เครื่อง Spectrophotometer

6. 96 well platd

สารเคมี

1. Polythylene glycol 30% (PEG)

- ชั่ง Polythylene glycol 12 กรัม และเติมน้ำ DI ให้ได้ปริมาตร 40 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

2. Lowry reagemt Sol^{n}

- เติมน้ำ DI 40 มิลลิลิตร ลงในหลอด Lowry reagemt Sol^{n} เขย่าให้เข้ากันโดยการกลับขวดไปมา เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4ºC

3. Fulin 2 cincalten' s Phenol reagent

- เตรียมสาร Fulin 2 cincalten' s Phenol reagent ใส่ลงในขวดเปล่า เติมน้ำ DI 80 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4ºC

4. Protein standard cd^{n} (BSA) 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

- เติมน้ำ DI 2 มิลลิลิตร ในขวด vial ที่มี Protein standard 2 มิลลิกรัม จากนั้นเขย่าสารให้ละลาย เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4ºC การเตรียมสารละลายมาตรฐาน โดยเตรียมจาก Protein standard (BSA) ที่มี ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ตารางที่ 1 วิธีการเตรียมสารละลายโปรตีนมาตรฐาน

ความเข้มข้น (µg/ml)	ปริมาณ Protein standard (µl)	DI water (µl)
0	0	300
200	60	240
400	120	180
600	180	120
800	240	60
1000	300	0

วิธีการเตรียมตัวอย่าง

การเตียม PEG 40 เท่า

1. ดูดพลาสมาจำนวน 72 ไมโครลิตร และ Polythylene glycol 30% จำนวน 18 ไมโครลิตร ลงในหลอดไมโครทิว ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่อง Vortex วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

2. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,500 rpm เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4ºC

3. ดูดส่วนใสด้านบน (take supernatant) ใส่ในไมโครทิวอันใหม่ทำการเจือจางให้เป็น 40 เท่า (โดยการเตรียมน้ำ DI 78 ไมโครลิตร และส่วนใสของพลาสมา + PEG 2 ไมโครลิตร)

การเตรียมพลาสมา 80 เท่า

1. เตรียมน้ำ DI 158 ไมโครลิตร ใส่ในไมโครทิว

2. เติมพลาสมา 2 ไมโครลิตร และเขย่าให้เข้ากัน

ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

1. นำสารละลายโปรตีนมาตรฐานที่ระดับต่าง ๆ หรือ พลาสมาที่ตกตะกอนด้วย Polythylene glycol 30% หรือพลาสมาที่เจือจาง 80 เท่า จำนวน 60 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดไมโครทิว

2. เติม Lowry reagemt Sol^{n} 60 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน (Vortex) วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที

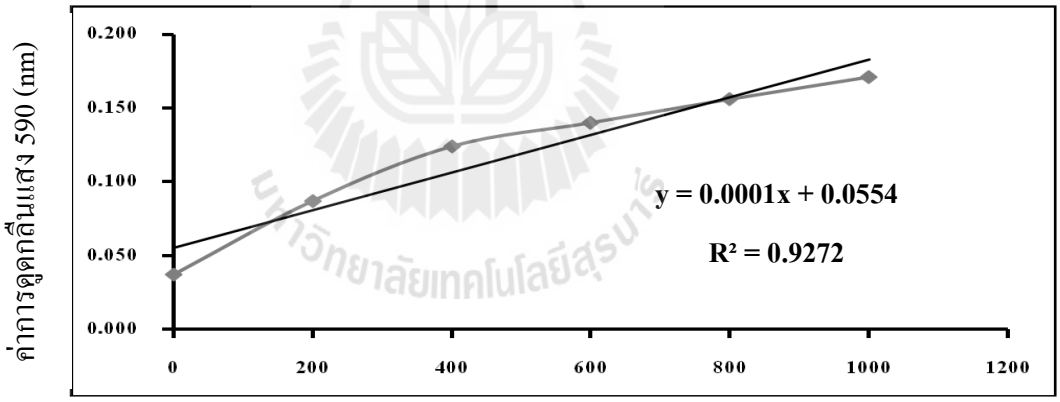
3. เติม Fulin 2 cincalten' s Phenol reagent 30 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน (Vortex) วางไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 45 นาที

4. นำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,500 rpm 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4ºC

5. ดูดส่วนใสด้านบนใส่ใน plat 96 well ช่องละ 50 ไมโครลิตร โดยทำตัวอย่างละ 2 ซ้ำ นำไปวัดค่าความดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตร

วิธีการคำนวณ

โดยการอ่านค่าความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน ได้แก่ ปริมาณของโปรตีนในพลาสมาที่ไม่ตกตะกอน (albumin and globulin) และปริมาณของโปรตีนในพลาสมาที่ตกตะกอน (albumin)



ภาพที่ 1 กราฟมาตรฐานสารละลายโปรตีน

ปริมาณของโปรตีนในพลาสมาที่ไม่ตกตะกอน (A)

= ความเข้มข้นของโปรตีน × จำนวนเท่าที่เจือจาง (80)

ปริมาณของโปรตีนในพลาสมาที่ตกตะกอน (B)

= ความเข้มข้นของโปรตีน × จำนวนเท่าที่เจือจาง (40)

ดังนั้น Total immunoglobulin = A – B

6. การวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอล (Intarapichet et al., 2008)

วัสดุและอุปกรณ์

1. เครื่องชั่ง
2. ชุด Reflux
3. ปิเปตต์
4. Vortex
5. ขวด Vial

สารเคมี

1. Ethanol - methanol - isopropanal (90 : 5 : 5 v/v/v)
2. 60% KOH
3. Hexane
4. DI water
5. Internal standard (5 - cholestane ใน hexane 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

ขั้นตอนการทดลอง

1. โดยทำการชั่งไข่แดงจำนวน 5 กรัม ใส่ลงใน Round bottom flask

2. เติม Ethanol - methanol - isopropanal (90 : 5 : 5 v/v/v) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เติม 60% KOH ปริมาตร 5 มิลลิลิตร (1 มิลลิลิตรต่อตัวอย่าง 1 กรัม) เขย่าให้เข้ากัน

3. ทำการ Reflux เป็นเวลา 1 ชั่วโมง (เริ่มนับจากเมื่อตัวอย่างเดือด) นำมาวางให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง

4. ทำการเติม Hexane ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 10 นาที

5. เติมน้ำ DI ปริมาตร 25 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 15 นาที จะเห็นการแยกชั้นของ Hexane อย่างชัดเจนซึ่งจะอยู่ชั้นบน

6. ทำการปิเปตสารละลายมาปริมาตร 12.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง

7. ทำให้แห้ง (dry) ด้วยก๊าซไนโตรเจน (N_2)

8. นำสารส่วนที่แห้งมาละลายด้วย Internal standard ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

9. ดูดใส่ Vial นำไปวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอลด้วย Gas chromatography (Hewlett Packard, HP 6890 series GC system)

ประวัติผู้เขียน

นางสาวสุภัตรา โอกระโทก เกิดวันที่ 26 กันยายน พ.ศ. 2530 ที่จังหวัดนครราชสีมา เริ่มศึกษาระดับประถมศึกษาที่โรงเรียนครบุรีวิทยา และศึกษาระดับมัธยมศึกษาที่โรงเรียนครบุรี อำเภอครบุรี จังหวัดนครราชสีมา และเข้าศึกษาระดับปริญญาตรี ในสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา สำเร็จการศึกษาเมื่อ พ.ศ. 2552 หลังจากนั้นได้เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโทสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ในปีการศึกษา 2553

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี