รหัสโครงการ SUT 3-303-52-24-30

รายงานการวิจัย

การปรับปรุงคุณภาพของกากมันสำปะหลังเพื่อเป็นแหล่งพลังงานทางเลือกใหม่สำหรับไก่เนื้อ

(Improving Cassava Pulp Quality as an Alternative Energy Source for Broilers)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT 3-303-52-24-30

รายงานการวิจัย

การปรับปรุงคุณภาพของกากมันสำปะหลังเพื่อเป็นแหล่งพลังงานทางเลือกใหม่สำหรับไก่เนื้อ

(Improving Cassava Pulp Quality as an Alternative Energy Source for Broilers)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ดร. สุทิศา เข็มผะกา

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

ผู้ร่วมวิจัย

ดร. วิทธวัช โมพี

ผศ. ดร. สุรินทร บุญอนันธนสาร

นายเฉลิมชัย หอมตา

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2552

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

มิถุนายน 2555

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัย จากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2552 ขอขอบคุณฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่ได้ให้ความอนุเคราะห์สถานที่เพื่อใช้ในงานทดลอง และขอขอบคุณ คุณฤทัยรัตน์ โต้งกระโทก และคุณธงชาติ สุริยวงศ์ ที่ได้ทำหน้าที่ผู้ช่วยวิจัย และจัดทำรายงานฉบับนี้ด้วย

สุทิศา เข็มผะกา

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อ

อุตสาหกรรมแป้งมันสำปะหลังก่อให้เกิดเศษเหลือคือ กากมันสำปะหลัง จากกระบวนการผลิตเป็นจำนวนมากในแต่ละปี กากมันสำปะหลังมีแป้งเป็นองค์ประกอบอยู่สูง (50-70%) แต่มีปริมาณโปรตีนต่ำ และเยื่อใยสูง จึงเป็นข้อจำกัดในการใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์สำหรับไก่เนื้อ อย่างไรก็ตามหากมีการหมักกากมันสำปะหลังร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์เพื่อเพิ่มโปรตีน หรือการเสริมเอนไซม์เพื่อย่อยเยื่อใยที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในกากมันสำปะหลัง น่าจะสามารถเพิ่มระดับการใช้ในอาหารไก่เนื้อได้ ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาศักยภาพของการใช้กากมันสำปะหลังในอาหารไก่เนื้อ โดยประกอบด้วย 5 การทดลอง

การทดลองที่ 1 ใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae, Candida utilis* และ *Aspergillus oryzae* ร่วมกับการใช้แหล่งไนโตรเจนจากยูเรียที่มีความเข้มข้นต่างกัน 6 ระดับ (0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.25%) หมักกากมันสำปะหลังเป็นเวลา 7 วัน ทำการวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โปรตีน และอะมิโนไนโตรเจนทุกวัน ผลการทดลองพบว่า การหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. oryzae* โดยใช้ยูเรียที่ระดับ 0.75% หมักเป็นเวลา 4 วัน สามารถเพิ่มโปรตีน และอะมิโนไนโตรเจนได้สูงกว่าการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* และ *C. utilis* ซึ่งที่สภาวะดังกล่าวสามารถเพิ่มการผลิตโปรตีน และอะมิโนไนโตรเจนในกากมันสำปะหลังจาก 2.59 และ 0.90% (กากมันสำปะหลังที่ไม่ได้หมัก) เป็น 17.40 และ 15.13% ตามลำดับ

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักเชื้อรา *A. oryzae* โดยใช้ยูเรียที่ระดับ 0.75% หมักเป็นเวลา 4 วันในอาหารไก่เนื้อต่อการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ โดยใช้ไก่เนื้อเพศผู้จำนวน 49 ตัว ที่อายุ 15 วัน แบ่งไก่ออกเป็น 7 กลุ่ม กลุ่มละ 7 ซ้ำ ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ทำการสุ่มไก่ให้ได้รับอาหารที่มีกากมันสำปะหลังหมัก 7 กลุ่ม (สูตรควบคุม 1 กลุ่ม และกากมันสำปะหลังหมัก 6 กลุ่ม: 4, 8, 12, 16, 20 และ 24%) เลี้ยงเป็นเวลา 10 วัน ผลการทดลองพบว่าการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะลดลงตามระดับการเพิ่มขึ้นของกากมันสำปะหลังหมัก แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติเมื่อใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 16%

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่เนื้อต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต คุณภาพซาก และค่าทางชีวเคมีของโลหิต โดยใช้ไก่เนื้อเพศผู้อายุ 1 วัน จำนวน 270 ตัว สุ่มแบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม เพื่อรับอาหารทดลอง (สูตรควบคุม 1 กลุ่ม และกากมันสำปะหลังหมัก 5 กลุ่ม: 4, 8, 12, 16 และ 20%) เลี้ยงเป็นเวลา 42 วัน ผลการทดลองพบว่าสามารถใช้กากมันสำปะหลังหมักเป็นแหล่งพลังงานในสูตรอาหารไก่เนื้อที่ระดับสูงสุด 16% โดยไม่ส่งผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต คุณภาพซาก สีเนื้อ และค่าทางชีวเคมีของโลหิต อย่างไรก็ตามการใช้กาก

มันสำปะหลังหมักที่ 20% มีผลให้น้ำหนักตับเพิ่มขึ้น ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 4-16% นอกจากนี้ยังพบว่ากากมันสำปะหลังหมักไม่ส่งผลกระทบต่อค่าแอคติวิตีของเอนไซม์แอสพาเตทอะมิโนทราเฟอเรส (aspartate aminotransferase: AST) และเอนไซม์อะลานีนอะมิโนทรานเฟอเรส (alanine aminotransferase) ของไก่เนื้อ

การทดลองที่ 4 การศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลังร่วมกับการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสต่อการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในไก่เนื้อ โดยใช้ไก่เนื้อเพศผู้จำนวน 49 ตัว ที่อายุ 22 วัน แบ่งไก่ออกเป็นกลุ่ม 7 กลุ่ม กลุ่มละ 7 ซ้ำ ทำการสุ่มไก่ให้ได้รับอาหารทดลอง 7 กลุ่ม (สูตรควบคุม และกากมันสำปะหลังระดับ 8, 12 และ 16%) เสริมด้วยเอนไซม์ไซลาเนสที่ระดับ 0.1 หรือ 0.2% เลี้ยงเป็นเวลา 10 วัน ผลการทดลองโดยภาพรวมแล้วสรุปได้ว่า การเสริมเอนไซม์ไซลาเนสสามารถเพิ่มการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในกากมันสำปะหลัง โดยการเสริมทั้งสองระดับให้ผลไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาต้นทุนค่าอาหารร่วมด้วย การเสริมที่ระดับ 0.1% น่าจะเหมาะที่สุดสำหรับไก่เนื้อ

การทดลองที่ 5 การศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลัง ร่วมกับการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตและคุณภาพซากของไก่เนื้อ โดยใช้ไก่เนื้อเพศผู้อายุ 1 วัน จำนวน 320 ตัว สุ่มแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม เพื่อรับอาหารทดลอง (สูตรควบคุม 1 กลุ่ม และกากมันสำปะหลัง 8, 12 และ 16% เสริมด้วยเอนไซม์ไซลาเนสระดับ 0.1%) ผลการทดลองพบว่าการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสที่ระดับ 0.1% สามารถเพิ่มระดับการใช้กากมันสำปะหลังได้ถึงระดับ 16% ในสูตรอาหารโดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และคุณภาพซากของไก่เนื้อ

โดยสรุปการปรับปรุงคุณภาพกากมันสำปะหลังโดยวิธีการหมักด้วยเชื้อ *A. oryzae* หรือการเสริมเอนไซม์ไซลาเนส 0.1% สามารถเพิ่มระดับการใช้กากมันสำปะหลังในสูตรอาหารไก่เนื้อได้ถึงระดับ 16% โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ สมรรถนะการเจริญเติบโต และคุณภาพซาก

ABSTRACT

Annually the tapioca starch industry generates a large amount of waste in the form of cassava pulp. This pulp contains a high volume of starch (50-70%) but contains low amounts of protein and high fiber, these factors limit its use as feedstuff for broilers. However, if this pulp is fermented with microorganisms to improve protein or is supplemented with enzyme to digest fiber constitutes in the pulp, this would increase the inclusion levels in broiler diets. Therefore, this experiment aimed to study the potential use of cassava pulp in broiler diets. The study consisted of 5 experiments as follows:

In experiment 1, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida utilis* and *Aspergillus oryzae* were use to ferment cassava pulp by varying the concentration of nitrogen (N) source from urea at 6 levels (0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 and 1.25%) for 7 days. Reducing sugars, crude proteins and amino N were measured daily. The results showed that cassava pulp fermented with *A. oryzae* using 0.75% urea for 4 days enhanced the higher protein and amino N content more than *S. cerevisiae* and *C. utilis*. This condition can increase protein and amino N from 2.59 and 0.9% (unfermented) to 17.4 and 15.13%, respectively.

Experiment 2 studied the effect of cassava pulp fermented with *A. oryzae* using 0.75% urea for 4 days in broiler diet on nutrient digestibility and retention. Forty-nine fifteen-day old male chickens were placed in individual cages and assigned randomly to 7 dietary treatment groups (one control and six fermented cassava pulp: 4, 8, 12, 16, 20 and 24%) for 10 days. The results indicated that nutrient digestibility and retention decrease with increasing levels of fermented cassava pulp. Overall, these parameters were not significantly decrease when fermented cassava pulp was included up to 16% in diets.

Experiment 3 studied the effect of fermented cassava pulp in broiler diets on growth performance, carcass quality and blood biochemistry. Two hundred and seventy one-day old male chickens were randomly distributed to 6 dietary treatment groups (one control and five fermented cassava pulp: 4, 8, 12, 16 and 20%) for 42 days. The results showed that fermented cassava pulp could be used as an energy source with inclusion level up to 16% in broiler diets which had no significant effects on growth performance, carcass composition, meat color and blood biochemistry. However, the use of fermented cassava pulp at 20% resulted in increased liver weight ($P<0.05$) compared with control and fermented cassava pulp at levels of 4-16%. Moreover,

it was found that fermented cassava pulp had no detrimental effects on aspartate aminotranferase (AST) and alanine aminotranferase (ALT) of broilers.

Experiment 4 studied the effect of using cassava pulp with xylanase enzyme supplementation on nutrient digestibility and retention. Forty-nine twenty two-day old male chickens were placed in individual cages and assigned randomly to 7 dietary treatment groups (control and cassava pulp at levels of 8, 12 and 16% supplemented with 0.1 or 0.2% xylanase) for 10 days. Over all, the results indicated the addition of xylanase enzyme could improve nutrient digestibility and retention of cassava pulp. However, when considered in conjunction with feed cost the addition of xylanase at 0.1% would the most suitable level for broilers.

Experiment 5 studied the effect of cassava pulp supplemented with xylanase enzyme on growth performance and carcass quality of broilers. Three hundred, twenty one-day old male chickens were randomly distributed within 4 dietary treatment groups (one control and 8, 12 and 16% cassava pulp supplemented with 0.1% xylanase) for 42 days. The results showed that supplemental 0.1% xylanase could increase the inclusion level of cassava pulp up to 16% without showing significant effects on growth performance and quality of broilers.

In conclusion, the improvement cassava pulp quality by fermentation with *A. oryzae* or supplementation with 0.1% xylanase enzyme can be used in broiler diets up to 16% without detrimental effects on nutrient digestibility and retention, growth performance and carcass quality.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ .....ก
บทคัดย่อภาษาไทย .....ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....ง
สารบัญ .....ฉ
สารบัญตาราง .....ฌ
สารบัญภาพ .....ฎ
บทที่ 1 บทนำ
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหางานวิจัย 1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย 3
1.4 ทฤษฎี สมมติฐาน และหรือกรอบแนวคิดของการวิจัย 3
1.5 ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย 3
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง
2.1 สถานการณ์การผลิตมันสำปะหลังในประเทศไทย 4
2.2 กระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง 7
2.3 กากมันสำปะหลัง 10
2.4 การใช้กากมันสำปะหลังเป็นแหล่งวัตถุดิบอาหารสัตว์ 13
2.5 กระบวนการหมักเพื่อเพิ่มโปรตีนในวัตถุดิบอาหาร 16
2.6 จุลินทรีย์ที่ใช้ในกระบวนการหมัก 18
2.7 เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้ง 22
2.8 ปัจจัยที่มีผลต่อการหมักด้วยเชื้อยีสต์และรา 23
2.9 ผลของการเพิ่มโปรตีนจากการหมักมันสำปะหลังด้วยยีสต์และรา 27
2.10 ผลของการหมักวัตถุดิบอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของสัตว์..... 28
2.11 การใช้เอนไซม์ย่อยเยื่อใย (Non-starch polysaccharides degrading enzyme) ในอุตสาหกรรมการผลิตไก่เนื้อ 30
2.12 ผลของการเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใย (Non-strach polysaccharides degrading enzyme)ในอาหารไก่เนื้อ…… 33

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาหาวิธีการเพิ่มคุณค่าทางโภชนะของกากมันสำปะหลัง โดยวิธีการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ 38

3.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะจาก กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่เนื้อ 40

3.3 การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักต่อสมรรถนะ การเจริญเติบโตและคุณภาพซากของไก่เนื้อ 46

3.4 การทดลองที่ 4 ศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังร่วมกับการเสริมเอนไซม์ ไซลาเนสในอาหารต่อการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในไก่เนื้อ 49

3.5 การทดลองที่ 5 ศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังร่วมกับการเสริมเอนไซม์ ไซลาเนสในอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตและคุณภาพซากของไก่เนื้อ 53

3.6 สถานที่ทำการทดลอง 54

3.7 ระยะเวลาทำการทดลอง 54

บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 การทดลองที่ 1 ผลการศึกษาหาวิธีการเพิ่มคุณค่าทางโภชนะของ กากมันสำปะหลังโดยวิธีการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ 56

4.2 การทดลองที่ 2 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักต่อการย่อยได้และ ใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในไก่เนื้อ 64

4.3 การทดลองที่ 3 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักต่อสมรรถนะ การเจริญเติบโตและคุณภาพซากของไก่เนื้อ 66

4.4 การทดลองที่ 4 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังร่วมกับการเสริมเอนไซม์ ไซลาเนสต่อการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในไก่เนื้อ 74

4.5 การทดลองที่ 5 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังร่วมกับการเสริมเอนไซม์ ไซลาเนสต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และคุณภาพซากของไก่เนื้อ 75

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 5 บทสรุป

5.1 สรุปผลการวิจัย 82

5.2 ข้อเสนอแนะ 82

บรรณานุกรม 84

ภาคผนวก 95

ประวัติผู้วิจัย 100

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 ปริมาณผลผลิตมันสำปะหลังของโลกจำแนกตามประเทศผู้ผลิตรายใหญ่ ปี 2549-2551 5
ตารางที่ 2.2 ปริมาณผลผลิตมันสำปะหลังในประเทศไทย 5
ตารางที่ 2.3 ปริมาณผลผลิตมันสำปะหลังของประเทศไทยจำแนกตามภูมิภาค และจังหวัดที่มีการผลิตสูงสุดปี 2550-2553 6
ตารางที่ 2.4 เปรียบเทียบราคาข้าวโพดและมันสำปะหลังในประเทศไทยปี 2547-2553 6
ตารางที่ 2.5 ปริมาณการส่งออกแป้งมันสำปะหลังของประเทศไทยปี 2549-2553 7
ตารางที่ 2.6 องค์ประกอบทางโภชนะของกากมันสำปะหลัง (%) 10
ตารางที่ 2.7 ปริมาณและชนิดของเยื่อใยของกากมันสำปะหลัง 12
ตารางที่ 2.8 องค์ประกอบทางโภชนะของกากมันสำปะหลังและวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ 13
ตารางที่ 2.9 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ 15
ตารางที่ 2.10 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังต่อสมรรถนะการผลิตในอาหารสุกร 16
ตารางที่ 2.11 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักวัตถุดิบอาหารสัตว์ 20
ตารางที่ 2.12 ผลของการเพิ่มโปรตีนจากการหมักมันสำปะหลังด้วยยีสต์และรา 28
ตารางที่ 2.13 ผลการใช้กากมันสำปะหลังหมักต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของสัตว์ปีก 29
ตารางที่ 2.14 แสดงชนิดและปริมาณของเอนไซม์ที่เสริมในอาหารไก่เนื้อ 31
ตารางที่ 2.15 ผลของการเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใยในอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ 34
ตารางที่ 3.1 องค์ประกอบทางโภชนะของกากมันสำปะหลังหมัก (as fed basis) 44
ตารางที่ 3.2 ส่วนประกอบของสูตรอาหารไก่เนื้อระยะแรก (0-21 วัน) (การทดลองที่ 2) 45
ตารางที่ 3.3 ส่วนประกอบของสูตรอาหารไก่เนื้อ (การทดลองที่ 3) 50
ตารางที่ 3.4 ส่วนประกอบของสูตรอาหารไก่เนื้อ (การทดลองที่ 4) 52
ตารางที่ 3.5 ส่วนประกอบของสูตรอาหารไก่เนื้อ (การทดลองที่ 5) 55
ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางโภชนะของกากมันสำปะหลังหมัก (% as-fed basis) 63
ตารางที่ 4.2 ผลของกากมันสำปะหลังหมักต่อการย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในไก่เนื้อ 65

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 4.3 ผลของกากมันสำปะหลังหมักต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตในไก่เนื้อ (0-42 วัน).. 68
ตารางที่ 4.4 ผลของกากมันสำปะหลังหมักต่อลักษณะซากของไก่เนื้อ……...… 69
ตารางที่ 4.5 ผลของกากมันสำปะหลังหมักต่อลักษณะอวัยวะภายในของไก่เนื้อ…… 71
ตารางที่ 4.6 ผลของกากมันสำปะหลังหมักต่อลักษณะสีเนื้อและผิวหนังของไก่เนื้อ…….. 72
ตารางที่ 4.7 ผลของกากมันสำปะหลังหมักต่อค่าทางชีวเคมีของโลหิต…… 73
ตารางที่ 4.8 ผลของการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสในอาหารที่มีกากมันสำปะหลังเป็น
แหล่งวัตถุดิบต่อการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในไก่เนื้อ…… 75
ตารางที่ 4.9 ผลของการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสในอาหารสูตรกากมันสำปะหลังต่อ
สมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ…… 77
ตารางที่ 4.10 ผลของการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสในอาหารสูตรกากมันสำปะหลังต่อ
ลักษณะซากของไก่เนื้อ…… 78
ตารางที่ 4.11 ผลของการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสในสูตรอาหารกากมันสำปะหลังต่อ
ความยาวและน้ำหนักของอวัยวะในระบบทางเดินอาหารของไก่เนื้อ…… 79
ตารางที่ 4.12 ผลของการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสในอาหารสูตรกากมันสำปะหลัง
ต่อลักษณะสีของเนื้อไก่…… 80

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 2.1 กระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง…….…. 9
ภาพที่ 2.2 โครงสร้างทางโมเลกุลของอะไมโลส (ภาพบน) และอะไมโลเพคติน (ภาพล่าง)…… 11
ภาพที่ 2.3 การทำงานของเอนไซม์ไซลาเนส (xylanase) ……. 32
ภาพที่ 3.1 แสดงการเจริญของเชื้อรา *A. oryzae*……. 39
ภาพที่ 3.2 แสดงการเตรียมสารละลายสปอร์เชื้อรา *A. oryzae*……...……... 40
ภาพที่ 3.3 ข้าวสารที่ผ่านการนึ่งด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 121^{o}C นาน 15 นาที…….. 41
ภาพที่ 3.4 ข้าวสารที่ผ่านการหมักด้วยเชื้อ *A. oryzae* เป็นเวลา 4 วัน……..... 41
ภาพที่ 4.1 แสดงการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัม/กรัม) ในการหมัก
กากมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. oryzae* เมื่อใช้ยูเรียที่ระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75,
1.00 และ 1.25% หมักเป็นเวลา 7 วัน…….……. 57
ภาพที่ 4.2 แสดงการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัม/กรัม) ในการหมัก
กากมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* เมื่อใช้ยูเรียที่ระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75,
1.00 และ 1.25% หมักเป็นเวลา 7 วัน……..…… 58
ภาพที่ 4.3 แสดงการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัม/กรัม) ในการหมัก
กากมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *C. utilis* เมื่อใช้ยูเรียที่ระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75,
1.00 และ 1.25% หมักเป็นเวลา 7 วัน…….…. 58
ภาพที่ 4.4 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีน (% ในการหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อ
ด้วยเชื้อ *A. oryzae, S.cereviciae* และ *C.utilis* เมื่อใช้ยูเรียที่ระดับ 0, 0.25, 0.50,
0.75, 1.00 และ 1.25% หมักเป็นเวลา 7 วัน……. 60
ภาพที่ 4.5 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณอะมิโนไนโตรเจน (%) ในการหมัก
กากมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. oryzae, S. cereviciae* และ *C. utilis* เมื่อใช้ยูเรียที่
ระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.25% หมักเป็นเวลา 7 วัน…….. 61

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

อุตสาหกรรมการผลิตไก่เนื้อของประเทศไทยมีการขยายตัวในอัตราที่สูง เมื่อเทียบกับอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ชนิดอื่น แต่ปัญหาที่เกิดขึ้นก็คือการขาดแคลนวัตถุดิบอาหารสัตว์โดยเฉพาะข้าวโพดซึ่งเป็นแหล่งพลังงานหลักในสูตรอาหาร จนต้องมีการนำเข้าข้าวโพดจากต่างประเทศเพิ่มมากขึ้นในทุกๆ ปี ส่งผลให้มีต้นทุนการผลิตที่สูงขึ้น การศึกษาวิจัยหาแหล่งพลังงานจากวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดอื่นๆ ที่มีราคาถูก และสามารถหาได้ง่ายในท้องถิ่น เพื่อทดแทนการใช้ข้าวโพดน่าจะช่วยลดต้นทุนค่าอาหารได้

มันสำปะหลังเป็นพืชที่มีการปลูกกันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย มีปริมาณการผลิตเพิ่มขึ้นทุกปี ประมาณปีละ 16-25 ล้านตัน โดยหัวมันสำปะหลังสดประมาณ 55% ของปริมาณที่ผลิตได้แต่ละปีจะถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลัง ซึ่งในกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังจะมีเศษเหลือเป็นกากมันสำปะหลังถึง 11.1% (พิพัฒน์ และวิศิษฐิพร, 2550) โดยกากมันสำปะหลังดังกล่าวยังมีโภชนะหลงเหลืออยู่ (แป้ง 68.89% เถ้า 1.70% โปรตีน 1.55% เยื่อใย 27.75% และไขมัน 0.12%) (Sriroth et al., 2000) ซึ่งน่าจะสามารถใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ได้ จากการรวบรวมเอกสาร พบว่ากากมันสำปะหลังสามารถใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารไก่เนื้อได้ 8% โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต (Khempaka et al., 2009) แต่อย่างไรก็ตาม เนื่องจากกากมันสำปะหลังมีจุดด้อยคือ มีปริมาณโปรตีนต่ำ และมีเยื่อใยสูง ส่งผลให้ระดับการใช้ได้ในสูตรอาหารไก่เนื้อค่อนข้างจำกัด ดังนั้นหากมีการปรับปรุงโภชนะของกากมันสำปะหลังโดยวิธีการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์เพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีนให้สูงขึ้น หรือการเสริมเอนไซม์เพื่อช่วยย่อยเยื่อใยน่าจะสามารถเพิ่มระดับการใช้กากมันสำปะหลังในสูตรอาหารไก่เนื้อได้สูงขึ้น

ยีสต์และเชื้อรา เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่นิยมใช้ในกระบวนการหมักวัตถุดิบอาหารสัตว์ จากการศึกษาการใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในการหมักมันสำปะหลัง พบว่าสามารถเพิ่มโปรตีนได้ตั้งแต่ 4.4 ถึง 10.9% การใช้ราในกลุ่ม *Aspergillus niger* สามารถเพิ่มโปรตีนได้ตั้งแต่ 4.4 ถึง 12.2% และการใช้รา *Rhizopus oryzae* สามารถเพิ่มโปรตีนได้ตั้งแต่ 4.7 ถึง 8.8%

(Oboh and Akindahunsi, 2003; Oboh et al., 2002; Oboh and Elusiyan, 2007) กัลยานี และคณะ (2551) ศึกษาการใช้มันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *Amylomyces rouxii* ในไก่เนื้อ พบว่าสามารถใช้กากมันสำปะหลังหมักในสูตรอาหารได้ถึง 10% โดยไม่ส่งผลกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโต ปริมาณอาหารที่กิน และประสิทธิภาพการใช้อาหาร ส่วนอุษณีย์ภรณ์ และคณะ (2550) ซึ่งได้ศึกษาการใช้มันสำปะหลังหมักด้วยเชื้อรา *Aspergillus niger* ในเป็ดเนื้อ พบว่าการใช้มันสำปะหลังหมักในสูตรอาหารที่ระดับ 10% สามารถเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของเป็ดเนื้อได้ นอกจากนี้การเสริมเอนไซม์เพื่อช่วยย่อยเยื่อใยเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่น่าจะสามารถเพิ่มระดับการใช้กากมันสำปะหลังในสูตรอาหารไก่เนื้อ ได้มีการรายงานถึงการเสริมเอนไซม์ในสูตรอาหารไก่เนื้อที่ใช้วัตถุดิบเยื่อใยสูงเป็นส่วนประกอบ เช่น ข้าวบาร์เลย์ (เยื่อใยประมาณ 13.2-33%) พบว่าสามารถเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตได้ (Dusel et al., 1998; Mathlouthi et al., 2002; Meng et al., 2004; Meng et al., 2005) โดยเยื่อใยที่เป็นองค์ประกอบในกากมันสำปะหลังส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มเฮมิเซลลูโลส (Suksombat et al., 2006) ที่มีไซแลนเป็นองค์ประกอบหลัก ดังนั้นการเสริมเอนไซม์ไซลาเนส ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่มที่ย่อยสลายเฮมิเซลลูโลส จึงน่าจะสามารถเพิ่มการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ และท้ายที่สุดก็น่าจะส่งผลดีต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ

ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อหาแนวทางในการเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของกากมันสำปะหลัง โดยการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของกากมันสำปะหลังด้วยวิธีการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ และการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสในสูตรอาหารที่มีกากมันสำปะหลังเป็นแหล่งวัตถุดิบ โดยศึกษาผลต่อการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ สมรรถนะการเจริญเติบโต และคุณภาพซากของไก่เนื้อ

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของการเพิ่มคุณค่าทางโภชนะของกากมันสำปะหลังโดยวิธีการหมักด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และ *Candida utilis* และเชื้อรา *Aspergillus oryzae* และทำการคัดเลือกเชื้อที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดหมักกากมันสำปะหลัง เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในสูตรอาหารสำหรับไก่เนื้อ

2. เพื่อศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมัก ต่อการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ สมรรถนะการเจริญเติบโต และคุณภาพซากของไก่เนื้อ

3. เพื่อศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสในอาหารที่มีกากมันสำปะหลังเป็นแหล่งวัตถุดิบ ต่อการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ สมรรถนะการเจริญเติบโต และคุณภาพซากของไก่เนื้อ

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยนี้มุ่งเน้นที่จะนำกากมันสำปะหลังมาใช้เป็นวัตถุดิบอาหารแหล่งพลังงาน เพื่อลดการใช้ข้าวโพดในสูตรอาหารไก่เนื้อ โดยทำการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของกากมันสำปะหลังให้สูงขึ้นโดยการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ คือ เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และ *Candida utilis* และเชื้อรา *Aspergillus oryzae* และทำการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสในสูตรอาหารที่มีกากมันสำปะหลังเป็นส่วนประกอบ เพื่อที่จะสามารถเพิ่มระดับการใช้ในสูตรอาหารไก่เนื้อได้สูงขึ้น โดยทำการศึกษาผลต่อการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ สมรรถนะการเจริญเติบโต และคุณภาพซากของไก่เนื้อ

1.4 ทฤษฎี สมมติฐาน และหรือกรอบแนวความคิดของการวิจัย

เนื่องจากกากมันสำปะหลังยังมีโภชนะต่างๆ เป็นองค์ประกอบอยู่ ดังนั้นกากมันสำปะหลังน่าจะสามารถนำมาใช้เลี้ยงไก่เนื้อได้ แต่อย่างไรก็ตามกากมันสำปะหลังมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบที่ต่ำ และมีเยื่อใยเป็นองค์ประกอบที่สูง การปรับปรุงกากมันสำปะหลังโดยวิธีการหมักเพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีนให้สูงขึ้น หรือการเสริมเอนไซม์เพื่อเพิ่มการย่อยได้ของโภชนะน่าจะเป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์จากกากมันสำปะหลังได้สูงขึ้น

1.5 ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

1. สามารถเพิ่มระดับการใช้กากมันสำปะหลังในสูตรอาหารไก่เนื้อได้สูงขึ้น
2. ทราบระดับที่เหมาะสมในการใช้กากมันสำปะหลังหมัก หรือกากมันสำปะหลังเสริมเอนไซม์เพื่อเป็นวัตถุดิบอาหารสำหรับไก่เนื้อ รวมทั้งสามารถนำผลที่ได้จากงานวิจัยเป็นแนวทางในการพัฒนาวัตถุดิบคุณภาพต่ำชนิดอื่น ที่มีลักษณะคล้ายคลึงกับกากมันสำปะหลังสำหรับเลี้ยงไก่เนื้อได้
3. เพิ่มแนวทางการใช้ประโยชน์จากกากมันสำปะหลังได้มากขึ้น ช่วยกำจัดของเสีย และลดมลภาวะสู่สิ่งแวดล้อมได้อีกทางหนึ่ง

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 สถานการณ์การผลิตมันสำปะหลังในประเทศไทย

มันสำปะหลังจัดเป็นพืชหัวชนิดหนึ่ง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Manihot esculenta* Crantz. มีชื่อสามัญเรียกหลายชื่อตามภาษาต่างๆ ได้แก่ cassava, yuca, mandioa, manioc, tapioca มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย เนื่องจากเป็นประเทศที่มีพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังเป็นอันดับที่ 3 ของโลก รองจากประเทศไนจีเนีย และบราซิล (แสดงในตารางที่ 2.1) นอกจากนั้นประเทศไทยยังมีการส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังเป็นอันดับหนึ่งของโลก ซึ่งปริมาณการผลิตมันสำปะหลังยังมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากปริมาณความต้องการมันสำปะหลังเพื่อใช้ในประเทศ และเพื่อการส่งออกยังคงเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ปัจจุบันประเทศไทยมีการปลูกมันสำปะหลังเพิ่มขึ้นทุกปี (แสดงในตารางที่ 2.2) โดยเฉพาะภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีการเพาะปลูกมันสำปะหลังมากที่สุดในประเทศไทย โดยมีพื้นที่เพาะปลูกเท่ากับ 4,242,124 ไร่ หรือร้อยละ 54.73 ของพื้นที่เพาะปลูกมันสำปะหลังทั้งประเทศ และจังหวัดนครราชสีมามีการเพาะปลูกมันสำปะหลังมากที่สุดในประเทศ (แสดงในตารางที่ 2.3) โดยหัวมันสำปะหลังสดที่ผลิตได้ประมาณ 55% ถูกใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลัง ส่วนหัวมันสำปะหลังสดที่เหลือ ประมาณ 45% ถูกใช้ในการผลิตเป็นมันเส้น มันอัดเม็ด และการผลิตเอทานอล (ปรารถนา และคณะ, 2552)

มันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบอาหารชนิดหนึ่ง ที่มีความเหมาะสมกับการใช้เลี้ยงสัตว์ชนิดต่างๆ ได้เป็นอย่างดี เนื่องจากมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบอาหารประเภทแป้งที่มีราคาถูกกว่าวัตถุดิบอาหารประเภทแป้งชนิดอื่นๆ เช่น ข้าวโพด (แสดงในตารางที่ 2.4) การนำมันสำปะหลังมาเลี้ยงสัตว์จะทำให้ต้นทุนการผลิตสัตว์ถูกลง

ตารางที่ 2.1 ปริมาณผลผลิตมันสำปะหลังของโลกจำแนกตามประเทศผู้ผลิตรายใหญ่ ปี 2549-2551

ประเทศ	ผลผลิต (1,000 ตัน)		
	2549	2550	2551
ไนจีเรีย	45,721	43,410	44,582
บราซิล	26,639	26,541	25,878
ไทย	22,584	26,916	25,156
อินโดนีเซีย	19,987	19,988	21,593
คองโก	14,989	15,004	15,019
กานา	9,638	9,650	9,650
เวียดนาม	7,783	8,193	9,396
อินเดีย	7,855	8,232	9,054
อังโกลา	8,810	8,840	8,840
แทนซาเนีย	6,158	6,600	6,600
อื่นๆ	52,128	50,757	54,772
รวมทั้งโลก	222,292	224,131	230,540

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2552)

ตารางที่ 2.2 ปริมาณผลผลิตมันสำปะหลังในประเทศไทย

ปี	ผลผลิตหัวมันสด (1,000 ตัน)
2552/53	22,117
2551/52	30,088
2550/51	25,156
2549/50	26,411
2548/49	22,584
2547/48	16,938
2546/47	21,440

ที่มา: มูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย (2551)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 2.3 ปริมาณผลผลิตมันสำปะหลังของประเทศไทยจำแนกตามภูมิภาค และจังหวัดที่มีการผลิตสูงสุดปี 2550-2553

ภาค/จังหวัด	ผลผลิต (1,000 ตัน)			
	2550	2551	2552	2553
เหนือ	3,894	3,805	5,287	4,220
ตะวันออกเฉียงเหนือ	14,578	13,448	15,571	11,710
กลาง	8,443	7,903	9,230	6,076
นครราชสีมา	7,018	6,298	7,130	5,051
กำแพงเพชร	1,550	1,504	2,177	1,697
สระแก้ว	1,357	1,289	1,483	973
ชัยภูมิ	1,345	1,266	1,452	1,039
ชลบุรี	1,203	1,072	1,120	1,001
ฉะเชิงเทรา	1,138	1,079	1,171	790
กาญจนบุรี	1,115	1,014	1,231	828
รวมทั้งประเทศ	26,916	25,156	30,088	22,006

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2554)

ตารางที่ 2.4 เปรียบเทียบราคาข้าวโพดและมันสำปะหลังในประเทศไทยปี 2547-2553

ปี	มันสำปะหลังเส้น (บาท/กก.)	ข้าวโพดอาหารสัตว์ (บาท/กก.)
2553	6.66	9.06
2552	4.43	6.95
2551	5.49	8.9
2550	4.69	7.78
2549	4.14	6.81
2548	4.40	5.50
2547	3.21	5.70

ที่มา: สมาคมผู้ผลิตอาหารสัตว์ไทย (2554)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2.2 กระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง

ในปัจจุบันประเทศไทยจัดเป็นประเทศที่มีการส่งออกแป้งมันสำปะหลังที่ใหญ่ที่สุดในโลก มีปริมาณการส่งออกเพิ่มขึ้นทุกปีดังแสดงในตารางที่ 2.5 และมีแนวโน้มที่จะเพิ่มกำลังการผลิตขึ้นถึง 4 ล้านตันต่อปีในอนาคตอันใกล้ โดยการผลิตแป้งมันสำปะหลังส่วนใหญ่จะเป็นการผลิตเพื่อการส่งออกสามารถจำแนกเป็น 3 ประเภท ได้แก่ อุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลังสำเร็จรูป (native starch industry) อุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลังแปรรูป (modified starch industry) และอุตสาหกรรมแปรรูปผลิตภัณฑ์อื่นๆ (starch derivatives industry)

ตารางที่ 2.5 ปริมาณการส่งออกแป้งมันสำปะหลังของประเทศไทยปี 2549-2553

ปี	ปริมาณการส่งออก (1,000 ตัน)
2553	2,432
2552	2,497
2551	1,987
2550	2,207
2549	2,307

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2554)

จากผลผลิตหัวมันสำปะหลังส่วนใหญ่ในประเทศไทยจะถูกนำมาแปรรูปเป็นแป้งมันสำปะหลัง โดยในกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังจะมีเศษเหลือที่เกิดจากกระบวนการผลิตประมาณ 10-15% (Sriroth et al., 2000) ซึ่งมาจากกระบวนการล้าง การปอกเปลือก และการสกัดแป้ง โดยจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังจะมีผลพลอยได้ที่อยู่ในรูปของแข็งได้แก่ เปลือก ราก และกากมันสำปะหลัง ซึ่งในอุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลังจะมีเศษเหลือเป็นกากมันสำปะหลังถึง 11.1% (พิพัฒน์ และคณะ , 2550) กระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังในปัจจุบันนิยมผลิตแบบสลัดแห้ง มีขั้นตอนการผลิต ดังนี้

1. การเตรียมวัตถุดิบ เป็นขั้นตอนที่ทำให้ดินทราย และเศษเปลือกหรือรากไม้ที่ปะปนมาให้หลุดไปโดยเครื่องร่อนดินทราย จากนั้นหัวมันสำปะหลังจะถูกล้างให้สะอาดโดยผ่านเครื่องล้างหัวมัน (root washer)

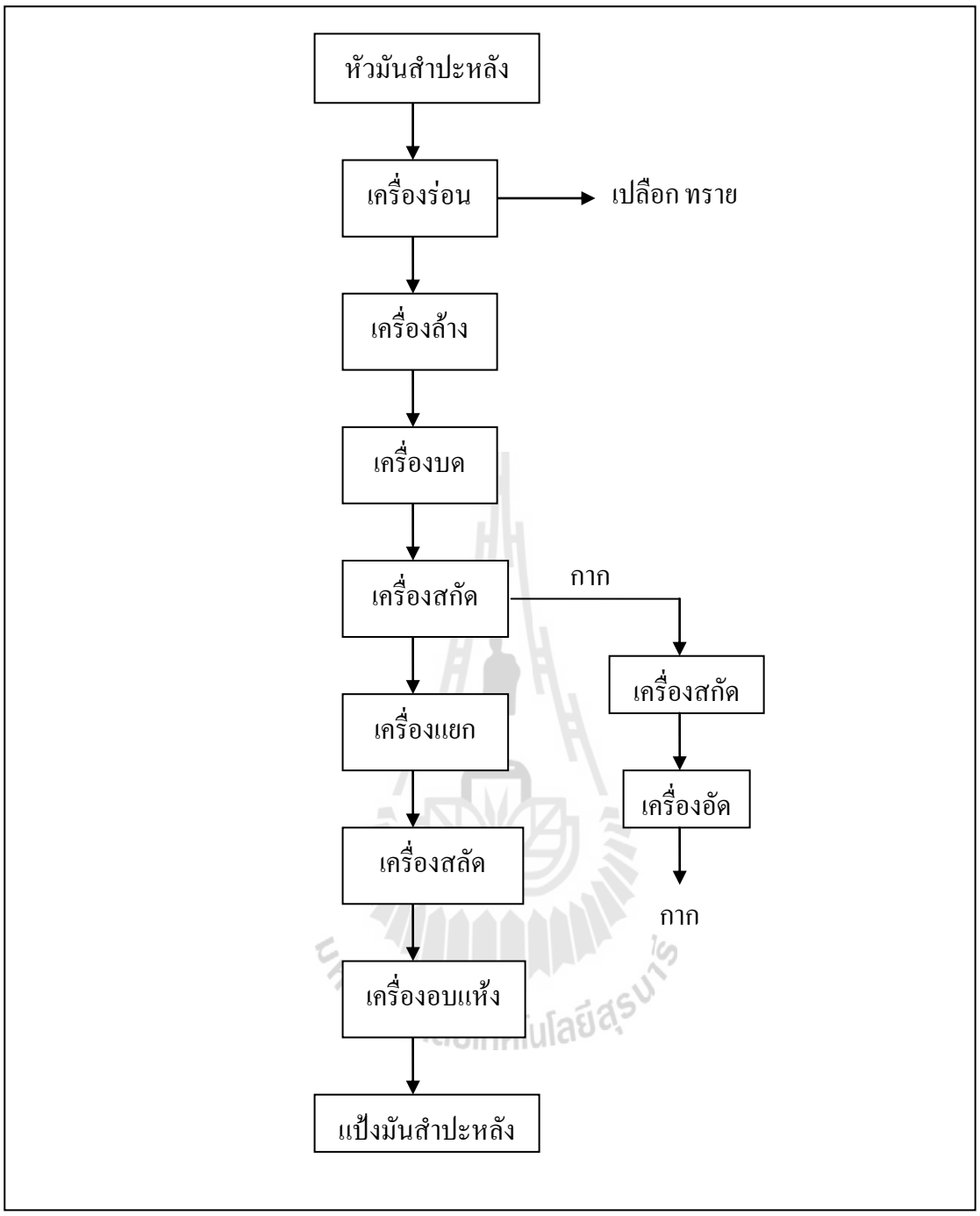
2. การโม่หัวมันสำปะหลัง เป็นขั้นตอนหลังจากหัวมันสำปะหลังผ่านขั้นตอนการล้างทำความสะอาดจากเครื่องล้างหัวมันแล้ว จะถูกลำเลียงด้วยสายพานเพื่อป้อนเข้าสู่เครื่องสับหัวมัน (root chopper) โดยเครื่องจะสับหัวมันให้มีขนาดเล็กลง จากนั้นหัวมันขนาดเล็กจะผ่านลงสู่

เครื่องโม่ (rasper) ในขั้นตอนนี้จะได้ของเหลวข้น (middle fresh pulp) ที่มีส่วนผสมของแป้ง น้ำ กากมัน และสิ่งเจือปนต่างๆ

3. การสกัดแป้ง เป็นขั้นตอนที่ของเหลวข้นจากเครื่องโม่จะถูกปั๊มเข้าสู่เครื่องดีแคนเตอร์ (decanter) ซึ่งเป็นเครื่องแยกน้ำทิ้งที่มีโปรตีน และไขมันออกจากเนื้อแป้ง ดังนั้นส่วนของแข็งที่เป็นแป้งรวมทั้งเส้นใย และกากจะถูกแยกออกจากน้ำแป้งที่มีความเข้มข้นสูง แล้วเข้าสู่หน่วยสกัดแป้งต่อไป เครื่องสกัดแป้งแบ่งออกเป็น 2 ชุด คือ ชุดสกัดหยาบ (coarse extractor) และชุดสกัดละเอียด (fine extractor) น้ำแป้งจะผ่านเข้าชุดสกัดหยาบก่อน เพื่อแยกกากหยาบออก แล้วจึงเข้าสู่ชุดสกัดละเอียดเพื่อแยกกากอ่อน กากหยาบ และกากอ่อนที่ได้จะผ่านเข้าสู่เครื่องสกัดชุดสกัดกาก (pulp extractor) และเครื่องอัดกากต่อไป (screw press) จากนั้นจะได้กากมันสำปะหลังออกมา

4. การอบแห้ง เป็นขั้นตอนการระเหยความชื้นออกไป และจะมีการตรวจสอบความชื้นของแป้งให้ได้ตามต้องการ จากนั้นจะบรรจุแป้งละเอียดที่ได้ลงถุงต่อไป

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 2.1 กระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง

2.3 กากมันสำปะหลัง (cassava pulp)

กากมันสำปะหลังเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังซึ่งมีปริมาณมากในแต่ละปี โดยองค์ประกอบส่วนใหญ่ของกากมันสำปะหลัง ประกอบด้วยแป้งเป็นหลัก และปริมาณแป้งในกากมันสำปะหลังที่สูงเป็นส่วนหนึ่งที่น่าสนใจในการนำกากมันสำปะหลังมาใช้เป็นแหล่งพลังงานในอาหารสัตว์

2.3.1 องค์ประกอบทางโภชนะของกากมันสำปะหลัง

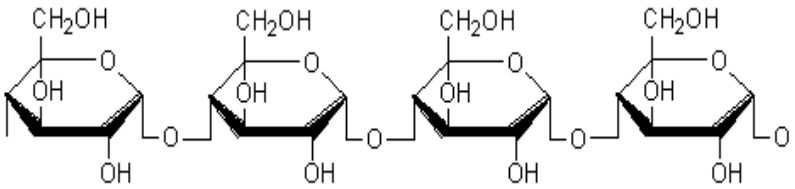
เนื่องจากความต้องการแป้งมันสำปะหลังทั้งในประเทศ และต่างประเทศมีปริมาณเพิ่มขึ้น จึงทำให้กากมันสำปะหลังซึ่งเป็นเศษเหลือจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังมีจำนวนเพิ่มขึ้นตามไปด้วย แต่อย่างไรก็ตามคุณค่าทางโภชนะของกากมันสำปะหลังได้จากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังมีความแตกต่างกัน ทั้งนี้เกิดจากความผันแปรอันเนื่องจากคุณภาพของหัวมันสำปะหลัง ได้แก่ สายพันธุ์มันสำปะหลัง ความอุดมสมบูรณ์ของดิน การเพาะปลูก การดูแลรักษา อายุการเก็บเกี่ยว ฤดูกาล และกรรมวิธีการสกัดแป้งมันสำปะหลังของแต่ละโรงงาน จึงทำให้โรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังในแต่ละภูมิภาคของประเทศ มีวัตถุดิบป้อนเข้าสู่โรงงานที่มีความแตกต่างกัน ส่งผลให้ส่วนของกากมันสำปะหลังที่เป็นเศษเหลือจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังมีสัดส่วนที่ไม่เท่ากัน ดังแสดงในตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 องค์ประกอบทางโภชนะของกากมันสำปะหลัง (%)

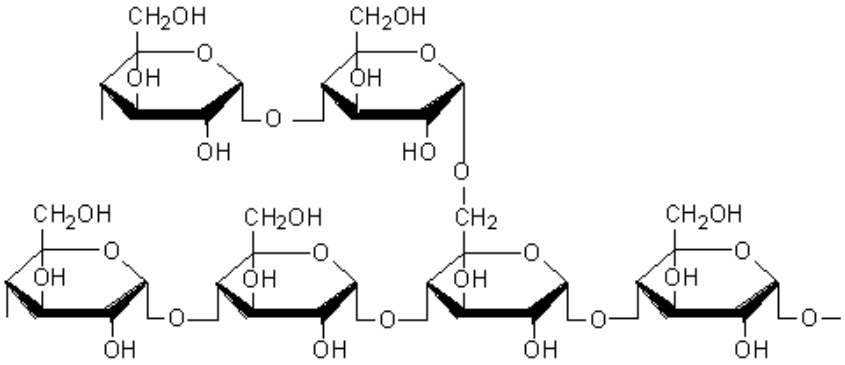
Starch	Ash	Protein	Fiber	Fat	Dry matter	References
68.89	1.70	1.55	27.75	0.12	-	Sriroth et al. (2000)
-	-	1.71	14.66	-	82.84	วราพันธุ์ และคณะ (2549)
-	3.8	2.6	6.6	0.2	92.6	Suksombat et al. (2006)
53.55	2.83	1.98	13.59	0.13	93.22	Khempaka et al. (2009)
47.97	5.73	3.42	14.75	0.5	88.66	ปรีดา และคณะ (2552)
50.20	5.32	2.35	14.57	0.53	89.12	สุเมธ และคณะ (2552)
66.22	2.65	3.39	15.26	0.24	97.79	ไกรวุฒิ (2550)

2.3.2 องค์ประกอบโครงสร้างของแป้งในกากมันสำปะหลัง

โครงสร้างของแป้งในกากมันสำปะหลังประกอบด้วยโพลิเมอร์ของกลูโคส 2 ชนิด คือ อะไมโลส (amylose) เป็นโพลิเมอร์เชิงเส้น ที่ประกอบด้วยกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิก (glucosidic linkage) ชนิด α-1, 4) และอะไมโลเพคติน (amylopectin) เป็นโพลิเมอร์เชิงกิ่งของกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิกชนิด α-1, 4 และส่วนที่เป็นกิ่งสาขาที่เป็นโพลิเมอร์กลูโคสสายสั้น เชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิกชนิด α-1, 6 ดังแสดงในภาพที่ 2.2



อะไมโลส



อะไมโลเพคติน

ภาพที่ 2.2 โครงสร้างทางโมเลกุลของอะไมโลส (ภาพบน) และอะไมโลเพคติน (ภาพล่าง)
ที่มา: Royal Society of Chemistry (2004)

มันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ประเภทแป้ง ซึ่งเมื่อใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตแป้ง และผ่านกระบวนการสกัดแป้งออก จะมีเศษเหลือเป็นกากมันสำปะหลังซึ่งยังคงมีแป้งหลืออยู่ประมาณ 50-68.89% ซึ่งแป้งจากหัวมันสำปะหลังนี้มีลักษณะเป็นแป้งอ่อน (soft starch) และมีคุณสมบัติในการดูดซับน้ำไว้ในโมเลกุลได้รวดเร็ว ทำให้เอนไซม์อะไมเลส (amylase) ในทางเดินอาหารของสัตว์ย่อยแป้งได้รวดเร็วก่อให้เกิดผลดีกับตัวสัตว์ เพราะสัตว์จะเกิดความเครียดจากการย่อยอาหารน้อยลง อีกทั้งแป้งที่ย่อยเร็วจะช่วยทำให้ประชากรของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ ต่อร่างกาย (non-pathogenic bacteria) ในทางเดินอาหารเพิ่มมากขึ้น และมีผลทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรคต่อร่างกาย (pathogenic bacteria) ในทางเดินอาหารลดลง ส่งผลให้สัตว์มีสุขภาพดีขึ้น

2.3.3 ชนิดของเยื่อใยในกากมันสำปะหลัง

กากมันสำปะหลังมีปริมาณเยื่อใยสูง ซึ่งเป็นข้อจำกัดต่อระดับการใช้ได้ในสูตรอาหารสัตว์ เยื่อใยที่เป็นองค์ประกอบในกากมันสำปะหลังส่วนใหญ่อยู่ในรูป insoluble fiber การศึกษาของ Suksombat et al. (2006) พบว่า กากมันสำปะหลังประกอบด้วย neutral detergent fiber (NDF) 36.7%, acid detergent fiber (ADF) 9.8% และ acid detergent lignin 3.9% ยิ่งไปว่านั้นชนิดของเยื่อใยในกากมันสำปะหลังยังมีความแตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 2.7 จากงานทดลองของ Ratanachomsri et al. (2009) พบว่าในกากมันสำปะหลังมีเยื่อใยชนิดเซลลูโลสสูงกว่าเฮมิเซลลูโลส แต่อย่างไรก็ตามงานทดลองของ Suksombat et al. (2006) พบว่ากากมันสำปะหลังมีปริมาณของเยื่อใยชนิดเฮมิเซลลูโลสสูงกว่าเซลลูโลส ทั้งนี้ความแตกต่างกันของปริมาณ และชนิดของเยื่อใยนั้นอาจเกิดขึ้นจากกระบวนการสกัดแป้งมันสำปะหลังของโรงงานที่มีคุณภาพแตกต่างกันซึ่งทำให้เยื่อใยในกากมันสำปะหลังที่เหลือออกมามีปริมาณที่ต่างกันด้วย

ตารางที่ 2.7 ปริมาณและชนิดของเยื่อใยของกากมันสำปะหลัง

Crude fiber	Hemicellulose	Cellulose	Lignin	References
-	4.58	15.63	2.83	Ratanachomsri et al. (2009)
6.6	27.8	5.9	3.9	Suksombat et al. (2006)
9.02	10.25	3.36	11.43	*

*ผลที่ได้จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

นอกจากนี้ มันสำปะหลังยังพบการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อรา เช่น สารพิษอะฟลาทอกซิน และสารพิษซีลาลีโนนน้อยมากหรือไม่มีเลย เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวโพดที่มีโอกาส

ปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อราได้มากกว่า (อุทัย, 2546) จากการศึกษา องค์ประกอบทางโภชนะของกากมันสำปะหลังเปรียบเทียบกับวัตถุดิบอาหารชนิดอื่นๆ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 2.8

ตารางที่ 2.8 องค์ประกอบทางโภชนะของกากมันสำปะหลังและวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ

เปอร์เซ็นต์	วัตถุดิบ			
วัตถุแห้ง	กากมันสำปะหลัง	ข้าวโพด	กากถั่วเหลือง	รำข้าว
วัตถุแห้ง	92.6 ± 0.06	92.5 ± 0.15	92.1 ± 0.18	93.0 ± 0.10
โปรตีน	2.6 ± 0.06	8.8 ± 0.09	48.5 ± 0.03	12.1 ± 0.04
ไขมัน	0.2 ± 0.04	4.7 ± 0.04	0.9 ± 0.03	19.2 ± 0.02
เถ้า	3.8 ± 0.01	2.5 ± 0.01	6.6 ± 0.08	13.9 ± 0.05
เยื่อใย	6.6 ± 0.04	2.7 ± 0.02	5.9 ± 0.08	14.6 ± 0.09
NDF	37.6 ± 0.18	9.7 ± 0.04	15.3 ± 0.12	30.7 ± 0.03
ADF	9.8 ± 0.12	3.5 ± 0.04	9.1 ± 0.20	21.7 ± 0.05
ADL	3.9 ± 0.04	1.3 ± 0.01	1.3 ± 0.06	9.6 ± 0.19

ที่มา: ปิตุนาถ (2547)

2.4 การใช้กากมันสำปะหลังเป็นแหล่งวัตถุดิบอาหารสัตว์

2.4.1 การใช้กากมันสำปะหลังในอาหารสัตว์ปีก

ผลของการใช้กากมันสำปะหลังต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ (แสดงไว้ในตารางที่ 2.9) สรุปได้ว่ากากมันสำปะหลังสามารถใช้ในสูตรอาหารไก่เนื้อได้ประมาณ 5-10% (ปรีดา และคณะ, 2552; ยุวเรศ และคณะ, 2550; Khempaka et al., 2009) หากใช้ในระดับที่สูงกว่านี้ พบว่าไก่เนื้อมีสมรรถนะการเจริญเติบโตลดลง ทั้งนี้อาจเป็นสาเหตุจากเยื่อใยที่เป็นองค์ประกอบในกากมันสำปะหลัง ซึ่งโดยส่วนใหญ่เป็นเยื่อใยไม่ละลายน้ำ (insoluble fiber) ทำให้อาหารเคลื่อนผ่านลำไส้เร็วขึ้น เอนไซม์มีเวลาในการย่อยอาหารน้อยลง และส่งผลทำให้การย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะลดลง (อุทัย, 2529) ความฟ่ามและความเป็นฝุ่นของกากมันสำปะหลังอาจมีผลต่อการกินอาหารได้เช่นกัน โดยปรีดา และคณะ (2552) รายงานว่าการอัดเม็ดอาหารที่มีกากมันสำปะหลังเป็นแหล่งวัตถุดิบสามารถเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต และปริมาณการกินอาหารของไก่เนื้อได้สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารผง ทั้งนี้เนื่องจากการอัดเม็ดอาหารจะช่วยลดความเป็นฝุ่น เพิ่มความน่ากิน และป้องกันการแยกตัวของส่วนประกอบอาหาร ทำให้สัตว์เลือกกินไม่ได้ สัตว์จึงได้รับโภชนะที่สมดุลในอาหารแต่ละเม็ดที่สัตว์กิน (สาโรช, 2547) สำหรับการศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังในไก่ไข่ พบว่าสามารถใช้กากมันสำปะหลังในสูตรอาหารไก่ไข่ได้ถึงระดับ 15% ไม่มีผลกระทบต่อสมรรถนะการผลิต และคุณภาพไข่ แต่จะส่งผลให้คะแนนสีไข่แดงลดลง เนื่องจากกากมันสำปะหลัง

เป็นวัตถุดิบอาหารที่ไม่มีสารให้สี (สุเมธ และคณะ, 2552) ดังนั้นการใช้กากมันสำปะหลังในอาหารไก่ไข่ จึงควรมีการพิจารณาเสริมสารสีเพื่อให้ได้ผลผลิตตรงตามความต้องการของตลาด

2.4.2 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังในอาหารสุกร

ผลการใช้กากมันสำปะหลังต่อสมรรถนะการผลิตของสุกร (แสดงในตารางที่ 2.10) พบว่าสามารถใช้กากมันสำปะหลังในสูตรอาหารสุกรอนุบาลได้ถึงระดับ 15% (วริยา และ คณะ, 2552) และสามารถใช้กากมันสำปะหลังในสุกรเล็ก - ขุนได้ถึงระดับ 30% (นารีรัตน์ และคณะ, 2552; สุกัญญา 2546) โดยไม่ส่งผลให้สมรรถนะการผลิตลดลง

จากข้อมูลที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่ากากมันสำปะหลัง สามารถใช้เป็นวัตถุดิบอาหารไก่เนื้อได้ แต่อย่างไรก็ตามกากมันสำปะหลังมีโปรตีนในปริมาณต่ำ และมีเยื่อใยในปริมาณสูง ทำให้ระดับการใช้ในสูตรอาหารไก่เนื้อค่อนข้างจำกัด การศึกษาหาวิธีการเพิ่มคุณค่าทางโภชนะของกากมันสำปะหลังจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจ ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงมีการศึกษา เพื่อหาแนวทางในการเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของกากมันสำปะหลัง โดยการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของกากมันสำปะหลังด้วยวิธีการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ และการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสในสูตรอาหารที่มีกากมันสำปะหลังเป็นแหล่งวัตถุดิบ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 2.9 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ

Treatment	BW (g)	BWG (g)	FI (g/bird)	FCR	References
Control	2,422[a]	-	4,566	2.03	Khempaka et al.
4% Cassava pulp	2,411[a]	-	4,705	2.11	(2009)
8% Cassava pulp	2,347[a]	-	4,785	2.23	
12% Cassava pulp	2,149[b]	-	3,949	1.99	
16% Cassava pulp	2,051[b]	-	3,753	1.99	
0 % Cassava pulp	-	2,756	4,801	1.75	ยุวเรศ และคณะ
5 % Cassava pulp	-	2,697	4,743	1.76	(2550)
10 % Cassava pulp	-	2,679	4,740	1.77	
0% Cassava pulp (mash)	-	2,421	4,079	1.68	ปรีดา และคณะ
5% Cassava pulp (mash)	-	2,546	4,469	1.76	(2552)
10% Cassava pulp (mash)	-	2,503	4,390	1.75	
0% Cassava pulp (pellet)	-	3,017	5,262	1.74	
5% Cassava pulp (pellet)	-	2,980	5,218	1.75	
10% Cassava pulp (pellet)	-	2,867	5,075	1.76	
Main effect means					
Level of cassava					
0% Cassava pulp	-	2,762[a]	4,756	1.72	
5% Cassava pulp	-	2,763[a]	4,843	1.76	
10% Cassava pulp	-	2,687[b]	4,732	1.76	
Feed form					
Mash		2,497[b]	4,338[b]	1.74	
Pellet		2,949[a]	5,176[a]	1.76	

[a, b] ในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางที่ 2.10 ผลของการใช้กากมันสำปะหลังต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของสุกร

Treatment	Initial BW (kg)	FI (g/d)	ADG (g/d)	FCR	References
0% Cassava pulp	7	685	376	1.83	วริยา และคณะ
5% Cassava pulp	7	663	360	1.84	(2552)
10% Cassava pulp	7	659	361	1.83	
15% Cassava pulp	7	654	354	1.86	
0% Cassava pulp	26.2	2,657	720	3.69	นารีรัตน์ และ
10% Cassava pulp	26.7	2,585	710	3.64	คณะ (2552)
20% Cassava pulp	26.7	2,561	685	3.72	
30% Cassava pulp	26.2	2,461	680	3.70	
0% Cassava pulp	26.7	2,050	790	2.60	สุกัญญา (2546)
10% Cassava pulp	28.4	2,050	770	2.65	
20% Cassava pulp	28.6	1,930	740	2.61	
30% Cassava pulp	28.2	1,970	750	2.62	

2.5 กระบวนการหมักเพื่อเพิ่มโปรตีนในวัตถุดิบอาหาร

การหมักในทางชีวเคมีหมายถึง การสร้างพลังงานจากกระบวนการย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์ หรือการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของสารประกอบอินทรีย์เนื่องจากเอนไซม์ กระบวนการหมักสามารถแบ่งได้เป็น 4 ประเภท คือ การหมักที่ให้ผลผลิตเป็นตัวเซลล์ (microbial cell or biomass) การหมักที่ให้ผลผลิตเป็นเอนไซม์ (microbial enzyme) การหมักที่ให้ผลผลิตเป็นสารเมทาบอไลท์ (microbial metabolite) และการหมักเพื่อเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบ (transformation process) ซึ่งการหมักกากมันสำปะหลังในครั้งนี้ จะเป็นการหมักที่ให้ผลผลิตเป็นตัวเซลล์ โดยการเพิ่มจำนวนเซลล์จุลินทรีย์บนกากมันสำปะหลังเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์

การหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ สามารถแบ่งตามลักษณะหรือปริมาณน้ำในอาหารเลี้ยงเชื้อได้เป็น 2 ชนิด คือ การหมักแบบเหลว (submerged fermentation) เป็นการหมักที่ทำโดยการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารที่มีลักษณะเหลว เช่น การหมักแอลกอฮอล์ และการหมักแบบแห้ง (solid state fermentation) เป็นการหมักที่มีการเติมน้ำเล็กน้อย เพียงเพื่อให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ต้องการเท่านั้น เช่น การหมักกรดซิตริกโดยใช้เชื้อรา (สมใจ , 2547)

การหมักแบบเหลว เป็นระบบการหมักวัตถุดิบที่ใช้ในการหมักละลายอยู่ในน้ำหมัก ดังนั้นส่วนประกอบหลักของอาหารเลี้ยงเชื้อจึงเป็นของเหลว วัตถุดิบที่ใช้ในการหมักแบบเหลวส่วน

ใหญ่เป็นวัสดุเศษเหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมประเภทต่างๆ เช่น น้ำตาล แป้ง เป็นต้น กระบวนการหมักในอาหารเหลวนิยมใช้กันมากในอุตสาหกรรม เนื่องจากใช้เนื้อที่ในการผลิตน้อย ทำให้สามารถเก็บผลผลิตได้เร็ว สามารถควบคุมปัจจัยในการหมักได้ง่าย

การหมักแบบแห้ง เป็นระบบการหมักด้วยจุลินทรีย์บนวัตถุดิบที่มีลักษณะอาหารแห้ง อย่างไรก็ตามน้ำที่อยู่ในกระบวนการหมักจะอยู่ในรูปของความชื้น ที่มีอยู่ในวัตถุดิบ ในกระบวนการหมักแบบแห้งนี้ปริมาณความชื้น หรือปริมาณน้ำที่จุลินทรีย์จะนำไปใช้ในกระบวนการหมัก จึงค่อนข้างต่ำ และข้อดีของกระบวนการหมักแบบแห้ง คือ มีขั้นตอนการหมักที่ไม่ซับซ้อน ไม่สิ้นเปลืองพื้นที่ในการหมัก ค่าใช้จ่ายในการลงทุนน้อย นอกจากนี้วัตถุดิบหมักที่ใช้จะมีความชื้นต่ำ ซึ่งจะช่วยลดปัญหาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการได้ และโปรตีนที่เพิ่มขึ้นจากการหมักได้จากการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์หรือเรียกว่าโปรตีนเซลล์เดียว (single cell protein) กระบวนการหมักเพื่อเพิ่มโปรตีนในวัตถุดิบอาหารส่วนใหญ่เป็นการหมักแบบแห้ง ซึ่งวัตถุดิบที่ใช้ในกระบวนการหมักแบบแห้งส่วนใหญ่ เป็นวัตถุดิบเศษเหลือจากอุตสาหกรรมการเกษตร ซึ่งหาง่าย และราคาถูก เช่น ซังข้าวโพด กากมันสำปะหลัง รำข้าว จากการศึกษาถึงศักยภาพในการเพิ่มมูลค่าของเศษเหลือที่มีส่วนประกอบของแป้ง และเยื่อใยจากอุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลัง พบว่าการใช้จุลินทรีย์ในกระบวนการหมักแบบแห้งสามารถเพิ่มมูลค่าของเศษเหลือจากอุตสาหกรรมการผลิตแป้งได้ (Pandey et al., 2000)

จากการศึกษาการเปรียบเทียบการหมักแบบแข็ง และการหมักแบบเหลว โดยใช้เชื้อรา *Aspergillus oryzae* ในการหมัก และใช้เศษเหลือจากอุตสาหกรรมการเกษตร เช่น รำข้าวสาลี แกลบข้าว รำข้าว กากธัญพืช กากมะพร้าว กากปาล์ม กากงา กากเม็ดขนุน และกากมะกอก เป็นสารตั้งต้นในการหมัก พบว่า ในการหมักแบบแข็งโดยใช้ข้าวสาลีเป็นสารตั้งต้นที่ความชื้น 43.6% ใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของเชื้อ 1 มิลลิลิตร (8×10^8 spores/ml) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง มีการทำงานของเอนไซม์โปรติเอสสูงถึง 31.2 Unit/gds และที่การหมักแบบเหลว โดยใช้ข้าวสาลีเป็นสารตั้งต้นมีการทำงานของเอนไซม์โปรติเอสเพียง 8.7 Unit/gds (Sandhya et al., 2005)

การหมักเป็นการแปรสภาพทางชีวเคมี เพื่อให้มีการเปลี่ยนแปลงวัตถุดิบเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ โดยในกระบวนการหมักต้องอาศัยเอนไซม์ของจุลินทรีย์ องค์ประกอบในกระบวนการหมักที่สำคัญ คือ จุลินทรีย์ สารอาหารสำหรับจุลินทรีย์ และสภาวะการหมัก

2.6 จุลินทรีย์ที่ใช้ในกระบวนการหมัก

การเลือกใช้จุลินทรีย์ในกระบวนการหมักนั้น จะต้องเป็นจุลินทรีย์ที่มีการเจริญเติบโตเร็ว มีความเหมาะสมกับสารตั้งต้น ที่เป็นเศษเหลือจากอุตสาหกรรมการเกษตรได้ สามารถให้ปริมาณจุลินทรีย์โปรตีนสูง และไม่ก่อให้เกิดสารพิษ โดยทั่วไปจุลินทรีย์ที่นิยมใช้ในกระบวนการหมักได้แก่ จุลินทรีย์ในกลุ่ม ยีสต์ รา และแบคทีเรีย (ตาราง 2.11)

โดยจุลินทรีย์ที่จะนำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ประกอบด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae*, *C. utilis* และเชื้อรา *A. oryzae*

2.6.1 เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

ยีสต์ตระกูล *Saccharomyces* เป็นยีสต์ที่รู้จักกันมานานในอุตสาหกรรมการผลิตแอลกอฮอล์ ขนมปัง และใช้เป็นอาหารสัตว์ (สาโรช, 2547) มีการศึกษาการนำมันเส้นมาหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* เพื่อใช้เป็นอาหารไก่เนื้อ โดยมีการเติมเอนไซม์อะไมเลสในอัตราส่วนเอนไซม์ต่อมันเส้นแห้งเท่ากับ 0.25:100 และใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ 0.50 กิโลกรัมต่อมันเส้นแห้ง 100 กิโลกรัม หลังจากนั้นเติมเชื้อ *S. cerevisiae* ในปริมาณ 10 ลิตรต่อมันเส้นแห้ง 100 กิโลกรัม ทำการหมักเป็นเวลา 2 วัน พบว่าสามารถเพิ่มโปรตีนในมันสำปะหลังหมักได้ถึง 11.71% (พัชรา, 2550)

2.6.2 เชื้อยีสต์ *Candida utilis*

ยีสต์ *C. utilis* เป็นยีสต์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวมากที่สุด เนื่องจากมีการเจริญเติบโตเร็ว เลี้ยงง่าย และให้โปรตีนสูง รวมถึงสามารถใช้น้ำตาล และอาหารได้หลายชนิด มีการศึกษาการหมักมันสำปะหลังโดยใช้ลูกแป้งของเชื้อผสมระหว่างเชื้อรา *Chlamydomucor* SUT1 และเชื้อยีสต์ *C. utilis* พบว่าสามารถเพิ่มโปรตีนในมันสำปะหลังได้ถึง 15.3% และมีอะมิโนไนโตรเจน 11% เมื่อมีการปรับปริมาณยูเรียที่ใช้ให้เหมาะสมในการเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ 1% หลังการหมักเป็นเวลา 6 วัน (นันทกร และคณะ, 2543) นอกจากนี้มีการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง เพื่อลดปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมแล้วนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์ พบว่าการใช้เชื้อ *Endomycopis fibuligera* TISTR 5097 และ *C. utilis* TISTR 5046 ในอัตราส่วน 1:4 (ปริมาตรต่อปริมาตร) โดยทำการเลี้ยงเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 เป็นเวลา 18 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติมเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 และใช้น้ำแช่ข้าวโพดที่ความเข้มข้น 1.3% (ปริมาตรต่อปริมาตร) เป็นแหล่งไนโตรเจน จะให้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 4.88 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณโปรตีนภายในเซลล์ 0.63 กรัมโปรตีนต่อน้ำหนักแห้ง (ดวงใจ และพรรณวิภา, 2547)

2.6.3 เชื้อรา *Aspergillus oryzae*

เชื้อรา *A. oryzae* เป็นเชื้อราที่ใช้หมักทำหัวเชื้อในการผลิตซีอิ้ว เต้าเจี้ยว และเป็นอาหารหมักพื้นบ้านของชาวเอเชียตะวันออก (สุมณฑา, 2545) *A. oryzae* ยังเป็นเชื้อราที่ถูกนำมาใช้ในการผลิตเอนไซม์ และสารเมทาโบไลท์ต่างๆ เป็นจำนวนมาก เนื่องจากเป็นเชื้อราที่มีความปลอดภัย มีการทดลองการผลิตไวน์ข้าวจากเชื้อรา *A. oryzae* โดยทำการเลี้ยงบนเมล็ดข้าวสุก หรือเรียกว่าโคจิ (koji) พบว่าเชื้อรา *A. oryzae* สามารถผลิตเอนไซม์ออกมาย่อยแป้งให้น้ำตาลได้ และการหมักที่อุณหภูมิต่ำจะได้ไวน์ข้าวที่มีคุณภาพดีกว่าการหมักที่อุณหภูมิสูง (สุนันทา และคณะ, 2550) นอกจากนี้เชื้อรา *A. oryzae* เป็นเชื้อราที่มีลักษณะเป็นเส้นใย ใช้ในกระบวนการผลิตอาหาร และมีการศึกษาการหมักถั่วเหลืองป่นโดยใช้เชื้อ *A. oryzae* ในการหมัก พบว่าสามารถทำให้โปรตีนเพิ่มขึ้นจาก 43.54 เป็น 49.41% (Lui et al., 2007) และจากการศึกษาของ Zamora and Veum (1979) ในการหมักเมล็ดถั่วเหลืองด้วยเชื้อ *A. oryzae* และเชื้อ *R. oligosporus* พบว่าจากการหมักด้วยเชื้อ *A. oryzae* สามารถทำให้โปรตีนเพิ่มขึ้นจาก 18.5 เป็น 21.6% และการหมักด้วยเชื้อ *R. oligosporus* สามารถทำให้โปรตีนเพิ่มขึ้นจาก 18.5 เป็น 18.7%

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 2.11 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักวัตถุดิบอาหารสัตว์

เชื้อจุลินทรีย์	อาหาร	ที่มา
เชื้อยีสต์		
S. cerevisiae	มันสำปะหลัง	สินชัย และคณะ (2530); รณชัย และอุทัย (2530); จรัญ และจรูญ (2530); พัชรา (2550); Oboh and Akindahunsi (2003); Oboh and Elusiyan (2007)
	แป้งมันสำปะหลัง	Oboh and Akindahunsi (2005)
	กากข้าวฟ่าง	Abu et al. (2005)
Schwanniomyces alluvius	มันสำปะหลัง	ทวีศักดิ์ และคณะ (2543)
	น้ำทิ้งจากโรงงานแป้งมันสำปะหลัง	ประภัสสร (2543)
Schwanniomyces occidentalis TISTR 5555	แป้งมันสำปะหลัง	พรเทพ และคณะ (2541); คณิต และคณะ (2537)
	กากมันสำปะหลัง	อนันตภัทร และคณะ (2548)
Schwanniomyces occidentalis TISTR 5346	แป้งมันสำปะหลัง	คณิต และคณะ (2537)
Schwanniomyces castellii	มันสำปะหลัง	ทวีศักดิ์ และคณะ (2544)
Candida utilis	น้ำทิ้งจากโรงงานแป้งมันสำปะหลัง	ประภัสสร (2543); นันทกร และคณะ (2543)
Candida sp.	มันสำปะหลัง	จรัญ และจรูญ (2530)
Candida tropicalis	มันสำปะหลัง,ข้าวโพด	Azoulay et al. (1980)
เชื้อรา		
Aspergillus niger	มันสำปะหลัง	รณชัย และอุทัย (2530); จรัญ และจรูญ (2530); สินชัย และคณะ (2530) ; Oboh et al. (2002)
	เปลือกมันสำปะหลัง	Aderemi and Nworgu (2007); Obadina et al. (2006); Adamafio et al. (2010)

ตารางที่ 2.11 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักวัตถุดิบอาหารสัตว์ (ต่อ)

เชื้อจุลินทรีย์	อาหาร	ที่มา
เชื้อรา		
Aspergillus niger	กากข้าวฟ่าง	Abu et al. (2005)
Amylomyces rouxii	มันสำปะหลัง	กัลยานี และคณะ (2551)
Aspergillus flavus	เปลือกมันสำปะหลัง	Obadina et al. (2006); Adamafio et al. (2010)
Aspergillus fumigatus	เปลือกมันสำปะหลัง	Obadina et al. (2006); Reade and Gregory (1975)
Aspergillus oryzae	เศษเหลือจากอุตสาหกรรมการเกษตร	Chutmanop et al. (2008); Zambare (2010); Sivaramakrishnan et al. (2007)
	กากเบียร์	Francis et al. (2002)
Mucor sp. W252	มันสำปะหลัง	จรัญ และจรูญ (2530)
Mucor sp.	มันสำปะหลัง	สินชัย และคณะ (2530)
Rhizopus oligosporus	กากมันสำปะหลัง	กรกช และคณะ (2545); เสริมศักดิ์ และเพ็ญจิตร (2545); Belewu and Babalola (2009)
Rhizopus oryzae	แป้งมันสำปะหลัง	Oboh and Elusiyan (2007)
Rhizopus stolonifer	เศษเหลือจากอุตสาหกรรมมันสำปะหลัง	Pothiraj et al. (2006)
Trichoderma viride (ATCC 36316)	เปลือกมันสำปะหลัง	Ezekiel et al. (2010)
เชื้อแบคทีเรีย		
Lactobacillus casei	มันสำปะหลัง	อุทัย และคณะ (2532)
Lactobacillus spp.	เปลือกมันสำปะหลัง	Oboh (2006); Adamafio et al. (2010)

2.7 เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้ง

เนื่องจากกากมันสำปะหลังมีองค์ประกอบของแป้งในปริมาณสูง ซึ่งสามารถใช้เป็นสารตั้งต้นในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยจุลินทรีย์จะมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ออกมาย่อยแป้ง และนำผลผลิตที่ได้จากการย่อยแป้งไปใช้ในการเพิ่มจำนวนเซลล์ โดยในกระบวนการหมักกากมันสำปะหลัง เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสำหรับสัตว์ จะใช้เอนไซม์จากเชื้อจุลินทรีย์ในการย่อยแป้งจากกากมันสำปะหลัง เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้งมีหลายชนิด โดยสามารถแบ่งเอนไซม์ตามลักษณะการทำงานได้ 3 กลุ่มคือ เอนไซม์ย่อยภายใน เอนไซม์ย่อยภายนอก และเอนไซม์ย่อยพันธะกิ่ง (กล้าณรงค์ และเกื้อกูล, 2546)

2.7.1 เอนไซม์ย่อยภายใน (endo-enzyme) เป็นเอนไซม์ที่ทำงานในโมเลกุลของแป้ง โดยจะตัดพันธะ α-1, 4 glucosidic ระหว่างโมเลกุลกลูโคสภายในส่วนของอะไมโลส และอะไมโลเพคติน เอนไซม์ในกลุ่มนี้ ได้แก่

2.7.1.1 แอลฟาอะไมเลส (α-amylase) โดยเอนไซม์นี้จะตัดพันธะ α-1, 4 ระหว่างโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคสที่จับอยู่เท่านั้น ไม่สามารถตัดพันธะ α-1, 6 ได้ ลักษณะการทำงานเป็นการสุ่มตัดภายใน เอนไซม์มีมวลโมเลกุลประมาณ 50 กิโลดาลตัน การทำงานของเอนไซม์ต้องการแคลเซียม (Ca^{++}) ร่วมทำกิจกรรม เอนไซม์มีความเสถียรที่ pH 5.5-9 และที่อุณหภูมิห้องถึง 115°C สามารถผลิตได้จากพืช สัตว์ เชื้อรา และแบคทีเรีย

2.7.2 เอนไซม์ย่อยภายนอก (exo-enzyme) เป็นเอนไซม์ที่ตัดพันธะที่จับกันของกลูโคสทั้งพันธะ α-1, 4 glucosidic และพันธะ α-1, 6 glucosidic เอนไซม์ในกลุ่มนี้ได้แก่

2.7.2.1 กลูโคอะไมเลส (glucoamylase) เป็นเอนไซม์ที่ตัดพันธะที่จับกันของน้ำตาลกลูโคสทั้งพันธะ α-1, 4 และพันธะกิ่ง α-1, 6 โดยการตัดพันธะกิ่งจะเกิดขึ้นช้ากว่าพันธะ α-1, 4 ในการย่อยแป้งให้ได้โมเลกุลของกลูโคสจะต้องใช้กลูโคอะไมเลสร่วมกับแอลฟาอะไมเลส เอนไซม์นี้มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 50-110 กิโลดาลตัน มีความเสถียรที่ pH 3.5-5 และที่อุณหภูมิ $\pm$55°C กลูโคอะไมเลสพบในจุลินทรีย์ เช่น *A. niger, A. oryzae* และ *Rhizopus* spp.

2.7.2.2 เอนไซม์เบต้าอะไมเลส (ß-amylase) เป็นเอนไซม์ที่ทำงานภายนอกโมเลกุลของแป้งจะตัดจากนอกเข้ามาใน โดยเริ่มจากปลายของอะไมโลสหรืออะไมโลเพคติน เอนไซม์จะตัดพันธะ α-1, 4 ของโมเลกุลกลูโคสเป็นคู่ๆ ไป ผลที่ได้จะได้เป็นน้ำตาลมอลโตส แต่เมื่อปฏิกิริยาเข้าใกล้พันธะ α-1, 6 ของอะไมโลเพคติน เอนไซม์จะหยุดกิจกรรม ทำให้เหลือโมเลกุลใหญ่ๆ ไว้มาก เอนไซม์เบต้าอะไมเลสต้องการแคลเซียม (Ca^{++}) ในการทำกิจกรรม เบต้าอะไมเลสพบได้ในพืชชั้นสูง เมล็ดธัญพืช เช่น ข้างบาร์เลย์ ข้าวโอ๊ต ข้าวสาลี และพบได้ในถั่วหรือมันฝรั่ง นอกจากนี้ยัง

สามารถสกัดเอนไซม์เบต้าอะไมเลสได้จากจุลินทรีย์ เช่น *Bacilli* และ *Pseudomonas* เอนไซม์จากพืชมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 125-150 กิโลดาลตัน เอนไซม์ที่ได้จากจุลินทรีย์มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 50 กิโลดาลตัน มีความเสถียรที่ pH 4-9 และที่อุณหภูมิต่ำกว่า 60°C

2.7.3 เอนไซม์ย่อยพันธะกิ่ง (debranching enzyme) เป็นเอนไซม์ที่ตัดพันธะ α-1, 6 กลูโคซิดิก เอนไซม์ในกลุ่มนี้ ได้แก่

2.7.3.1 เอนไซม์ไอโซอะไมเลส (isoamylase) เป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยจุดที่เป็นกิ่งก้านของไกลโคเจน และอะไมโลเพคตินได้ สามารถดำเนินกิจกรรมได้ดีในช่วง pH 3-4 และมีความเสถียรที่อุณหภูมิ 45-55°C เอนไซม์ชนิดนี้สามารถแยกได้จาก พืช สัตว์ และจุลินทรีย์

2.7.3.2 เอนไซม์พูลูลาเนส (pullulanase) เป็นเอนไซม์ที่ใช้ตัดพันธะ α-1, 6 ของพูลูแลนอะไมโลเพคติน แต่การทำกิจกรรมไม่สมบูรณ์เท่ากับย่อยโดยไอโซอะไมเลส และทำกิจกรรมกับไกลโคเจนได้ยาก สามารถย่อยได้สายกลูโคสที่มีความยาว 2-3 หน่วย ไม่สามารถย่อยจนได้กลูโคส 1 หน่วย เอนไซม์มีความเสถียรที่ pH 4.5-5.5 และที่อุณหภูมิ ± 50°C

2.8 ปัจจัยที่มีผลต่อการหมักด้วยเชื้อยีสต์และรา

ในกระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์จะต้องมีอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมเพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้อย่างดี ปัจจัยที่ควรคำนึงถึงประกอบด้วย สารตั้งต้น ความชื้น ความเป็นกรด-ด่าง แหล่งไนโตรเจน และแร่ธาตุ

1. สารตั้งต้น กระบวนการหมักโดยทั่วไปนิยมใช้คาร์โบไฮเดรตเป็นสารตั้งต้นที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้นจำเป็นต้องมีการเตรียมสารตั้งต้นให้เหมาะสมต่อกระบวนการหมักเพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้อย่างมีประสิทธิภาพ จากการศึกษาหาสารตั้งต้นที่มีความเหมาะสมในการหมักของเชื้อ *Trichoderma* sp. ต่อความสามารถในการผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และกลูโคอะไมเลส ซึ่งสารตั้งต้นประกอบด้วยมอลโทส (maltose) สารละลายแป้ง แป้งข้าวฟ่าง แป้งข้าวโพด และแป้งมันสำปะหลัง พบว่าเชื้อ *Trichoderma* sp. มีความเหมาะสมต่อมอลโทสซึ่งใช้เป็นสารตั้งต้นได้ดีที่สุด โดยมีการผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และกลูโคอะไมเลสได้สูงสุด (Pacheco et al., 2004) และการศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนต่อการผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ด้วยเชื้อ *A. oryzae* พบว่าเชื้อ *A. oryzae* สามารถเจริญเติบโตในมอลโทสและมอลโตเด็กทริน (maltodextrins) ได้ดี (Carlsen and Nielsen, 2001) นอกจากนี้มีการศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมในการใช้คาร์โบไฮเดรตเป็นสารตั้งต้น จากการทดลองนำมันสำปะหลังในรูปแบบที่แตกต่างกัน 4 ชนิด คือ มันเส้น มันสด มันเส้นนึ่ง และมันสดนึ่งมาทำการหมักพบว่า การนึ่งวัตถุดิบก่อนการหมักมีอิทธิพลอย่างมากต่อความสามารถของเชื้อในการผลิตเอนไซม์ออกมาย่อย

สารตั้งต้น ซึ่งขั้นตอนการนึ่งสามารถช่วยลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ตั้งต้นที่มีในมันสำปะหลังลงได้จำนวนหนึ่ง จึงสามารถลดภาวะแข่งขันจากเชื้ออื่นๆในระยะเริ่มต้นการหมักได้ ประโยชน์ที่ได้รับอีกประการหนึ่งก็คือ การนึ่งทำให้โมเลกุลของแป้งมีขนาดสั้นลง ช่วยในการทำงานของเอนไซม์ อะไมเลสให้ทำงานได้รวดเร็วขึ้น (นันทกรและคณะ, 2543)

2. ความชื้น การศึกษาความชื้นที่เหมาะสมในการหมักมันสำปะหลังด้วยเชื้อรา *A. niger* โดยวิธีการหมักแบบแข็ง (solid state fermentation) ได้ความชื้นเริ่มต้นของการหมักที่เหมาะสมคือ 60% โดยใช้เชื้อเริ่มต้นในการหมักเท่ากับ $1x10^8$ สปอร์ต่อกรัมอาหาร ช่วยให้ระดับโปรตีนเพิ่มขึ้นจากเดิม 2.22 เป็น 11.25% (อุษณีย์ภรณ์ และคณะ, 2550) นอกจากนี้การทดลองของ Oboh (2006) พบว่าความชื้นที่เหมาะสมของการหมักเปลือกมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *L. delbruckii, L. coryneformis* ร่วมกับ *S. cerevisiae* ในอัตราส่วน 2 :1:1 ใช้ความชื้นเริ่มต้นของการหมักที่เหมาะสมคือ 90-93% ช่วยให้ระดับโปรตีนเพิ่มขึ้นจากเดิม 8.2 เป็น 21.5%

3. ความเป็นกรดด่าง (pH) ซึ่งการควบคุม pH ให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสม จะสามารถทำให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตได้ดี และให้ผลผลิตสูง การควบคุม pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถทำได้โดยการเติมสารประกอบบางอย่างลงไปเพื่อให้ทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ หรือโดยการใช้กรดหรือด่างเติมลงไปภายหลัง นอกจากนี้การใช้แหล่งคาร์บอน และแหล่งไนโตรเจนในอัตราส่วนที่สมดุลกันก็จะช่วยควบคุม pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อได้ (สมใจ, 2547) จากการศึกษา หา pH ที่เหมาะสมในการหมักมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *Schawanniomyces occidentalis* พบว่า ที่ pH 6.5 มีความเหมาะสมสูงสุด และสามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนของมันสำปะหลังได้เป็น 22.3% (อนันตภัทร และ วิชัย, 2548) ส่วน pH ที่เหมาะสมสำหรับเชื้อ *Chlamydomucor* และ *C. utilis* ที่ใช้ในการหมักมันสำปะหลังจะอยู่ในช่วง 5-6 ซึ่งทำให้โปรตีนเพิ่มขึ้นเป็น 19.45% (นันทกร และคณะ, 2543)

4. แหล่งไนโตรเจน การศึกษาหาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมมีความสำคัญต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์สามารถใช้สารหลายชนิดเป็นแหล่งไนโตรเจนในการสังเคราะห์โปรตีน ดังนั้นในการเลือกใช้แหล่งไนโตรเจนจะขึ้นอยู่กับความสามารถของเชื้อว่าสามารถใช้สารประกอบชนิดไหนได้ดี อีกทั้งการเลือกใช้แหล่งไนโตรเจนมีข้อจำกัดเรื่องต้นทุน จึงควรเลือกใช้แหล่งไนโตรเจนที่มีราคาถูกและเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งแหล่งไนโตรเจนที่นิยมใช้ในกระบวนการหมักอาจมาจากผลผลิตทางการเกษตร เช่น เปลือกสับปะรด และถั่วลิสง ซึ่งเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการหมักมันสำปะหลัง จากการศึกษาการคัดเลือกชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่ใช้ในอาหารเพาะเลี้ยง คือ bacto-peptone, แอมโมเนียมซัลเฟต $[(NH_4)_2 SO_4]$ และแอมโมเนียมไนเตรท (NH_4NO_3) ที่ระดับความเข้มข้น 0.5% (w/v) พบว่าการเลือกใช้แอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจนในอาหารเพาะเลี้ยงสามารถเพิ่มโปรตีนได้ และลดต้นทุนของการผลิตได้เมื่อเทียบกับแหล่งไนโตรเจนอื่น (อนันตภัทร และวิชัย, 2548) จากการ

รายงานของ Pacheco et al. (2004) ที่ศึกษาหาแหล่งไนโตรเจนที่มีความเหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ย่อยสารละลายแป้งโดยเชื้อ *Trichoderma sp*. พบว่าการใช้น้ำแช่ข้าวโพด (corn steep liquor) เป็นแหล่งไนโตรเจนมีความเหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ย่อยแป้งสำหรับเชื้อ *Trichoderma sp*. มากที่สุด นอกจากนี้มีการทดลองใช้ยูเรียเป็นแหล่งอาหารไนโตรเจน โดยทดลองใช้ยูเรียที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ 0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.25% ตามลำดับ พบว่าการใช้ยูเรียที่ระดับ 1% สามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนจากสารตั้งต้นได้สูงขึ้น 11.37% ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีโปรตีนสูงถึง 19.45% (นันทกร และคณะ, 2543) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาการผลิตอาหารโปรตีนสูงจากมันสำปะหลังโดยกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ ที่ศึกษาการนำเชื้อยีสต์ที่แยกได้จากชิ้นมันสำปะหลังดิบมาทดสอบเพื่อหาแหล่งไนโตรเจนที่มีความเหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนได้สูงสุด โดยทำการหมักบนมันสำปะหลังแห้งที่มีการใช้ไนโตรเจนจากแหล่งที่ต่างกัน คือ แอมโมเนียมซัลเฟตระดับ 0.5 และ 1.0% และยูเรียระดับ 0.5 และ 1.0% พบว่าเชื้อยีสต์สามารถเจริญเติบโตบนชิ้นมันสำปะหลังแห้งที่มียูเรีย 1% อุณหภูมิ 30°C และระยะเวลาการบ่ม 72 ชั่วโมง สามารถผลิตโปรตีนได้สูงสุดเท่ากับ 280.5 ไมโครกรัมต่อลิตร นอกจากนี้การเติมแร่ธาตุก็มีความสำคัญต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งแร่ธาตุที่เติมลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อได้แก่ Mg, P, K, S, Ca และ Cl เป็นต้น

นอกจากนี้การหมักในระดับใหญ่ขึ้น ควรมีการพิจารณาถึงสภาวะของระบบการหมักที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิด ปัจจัยที่ควรคำนึงถึงประกอบด้วย

1) เชื้อเริ่มต้น (starter หรือ inoculum) ที่ใช้ในอุตสาหกรรมหมัก มีความสำคัญมาก เพราะจะมีผลต่อกระบวนการหมักทั้งหมด รวมทั้งระยะเวลาในการหมัก และต้นทุนการผลิตด้วย โดยทั่วไปจุลินทรีย์ที่จะใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นในการหมักควรมีสมบัติดังต่อไปนี้ คือ อยู่ในสภาพที่แข็งแรง และว่องไว (active) มีปริมาณมากพอที่จะใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นสำหรับถังหมักขนาดใหญ่ได้ตามต้องการ มีรูปแบบโครงสร้าง (morphological form) ที่เหมาะสมต่อกระบวนการหมัก ปราศจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ไม่ต้องการ และคงความสามารถในการสร้างผลผลิตที่ต้องการได้ (สมใจ, 2547)

จากการศึกษาประสิทธิภาพของลูกแป้ง *Chamydomucor* SUT1 ต่อกระบวนการย่อยแป้งมันสำปะหลัง (saccharification) พบว่าลูกแป้ง *Chamydomucor* SUT1 ให้ประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้เชื้อบริสุทธิ์ ซึ่งสามารถอธิบายเหตุผลได้ 2 ประการคือ ประการแรกเมื่อเติมหัวเชื้อเริ่มต้น (inoculum) ในรูปลูกแป้ง ซึ่งแป้งจะเป็นเหมือนตัวนำ (carrier) ที่จะช่วยป้องกันเชื้อจากสิ่งแวดล้อม ทำให้เชื้อสามารถปรับตัวอย่างช้าๆ ซึ่งเป็นผลดีต่อการเจริญในระยะแรกที่แตกต่างจากเชื้อบริสุทธิ์ที่อาจได้รับบาดเจ็บ และตายเป็นจำนวนมากในระยะปรับตัว (lag phase) และอีกประการคือ การที่เชื้ออยู่ในรูปลูกแป้งเชื้อจะอยู่ในสภาพที่มีอาหารจำกัด เมื่อพบแหล่งอาหารที่อุดมสมบูรณ์ก็มีการปรับตัวเจริญอย่างรวดเร็ว (นันทกร และคณะ, 2543)

2) ออกซิเจน การให้ออกซิเจนโดยการกวนสามารถทำให้เชื้อจุลินทรีย์ และสารอาหารภายในถังหมักกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ อีกทั้งยังเป็นการคายความร้อนที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมัก การกวนในถังหมักแต่ละชนิดขึ้นกับลักษณะเฉพาะของกระบวนการหมัก ในกระบวนการหมักที่ใช้ของเหลวความหนืดต่ำ และมีปริมาณของแข็งทั้งหมดน้อยจะสามารถใช้ระบบการให้อากาศเป็นฟองเล็กๆ ได้โดยไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องกวน แต่ในกระบวนการหมักแบบแห้งที่มีความชื้นของวัสดุหมักต่ำจะมีความหนืดสูง จึงจำเป็นต้องใช้การกวน จากการศึกษาผลของอัตราการให้อากาศที่มีต่อการหมักเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* บนมันสำปะหลังในถังแพคเบด พบว่าการหมักในถังแพคเบดขนาด 5 ลิตร ที่อัตราการให้อากาศ 2.4 ลิตรต่อนาที สามารถควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วงเหมาะสมคือ 30-37°C และให้ค่าปริมาณกลูโคซามีนซึ่งแสดงถึงการเจริญเติบโตของเชื้อที่สูงถึง 25.2 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักมันสำปะหลังแห้ง (เชิดพงษ์ และคณะ , 2546) และจากการศึกษาผลของอัตราการให้อากาศที่มีต่อปริมาณกลูโคซามีนในมันสำปะหลังหมัก พบว่าในสภาวะการให้อากาศชื้น เชื้อราสามารถเจริญเติบโตได้ดีกว่าการให้อากาศแห้งและไม่ให้อากาศ โดยที่อัตราเร็วของอากาศชื้น 1 ลิตรต่อนาที สามารถรักษาระดับอุณหภูมิ และความชื้นภายในถังหมัก และทำให้เชื้อรามีการเจริญเติบโตดีที่สุด โดยจะให้ค่าปริมาณกลูโคซามีนซึ่งแสดงถึงการเจริญเติบโตของเชื้อสูงสุด 19.78 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง เมื่อหมักเป็นระยะเวลา 36 ชั่วโมง (เพ็ญจิตร และคณะ, 2546) เนื่องจากในระบบการหมักแบบแห้งที่มีปริมาณการผลิตจำนวนมากจะมีความร้อนเกิดขึ้นจากการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้ต้องมีการระบายความร้อนออกจากระบบ และการให้อากาศชื้นจะมีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ดีกว่าการให้อากาศแห้ง และการไม่ให้อากาศ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2.9 ผลของการเพิ่มโปรตีนจากการหมักมันสำปะหลังด้วยยีสต์และรา

การหมักมันสำปะหลังด้วยยีสต์และราต่อการเพิ่มโปรตีน พบว่าทุกการทดลองในการหมักมันสำปะหลังสามารถเพิ่มโปรตีนได้ ซึ่งเป็นผลมาจากการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์โปรตีนที่ใส่ในกระบวนการหมักกากมันสำปะหลัง (Belewu and Babalola, 2009) จากการศึกษาการใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* ในการหมักมันสำปะหลังพบว่าสามารถเพิ่มโปรตีนได้ตั้งแต่ 4.4 ถึง 10.9% น้ำหนักแห้ง การใช้ราในกลุ่ม *A. niger* สามารถเพิ่มโปรตีนได้ตั้งแต่ 4.4 ถึง 12.2% น้ำหนักแห้ง และการใช้รา *R. oryzae* สามารถเพิ่มโปรตีนได้ ตั้งแต่ 4.7 ถึง 8.8% น้ำหนักแห้ง (Oboh and Akindahunsi, 2003; Oboh et al., 2002; Oboh and Elusiyan, 2007) เช่นเดียวกับการทดลองของ Oboh (2006) ซึ่งเป็นการใช้ *L. delbruckii, L. coryneformis* ร่วมกับ *S. cerevisae* หมักมันสำปะหลัง แล้วนำน้ำหมักที่ได้ไปหมักเปลือกมันสำปะหลังอีกครั้ง พบว่าสามารถเพิ่มโปรตีนในเปลือกมันสำปะหลังได้ตั้งแต่ 8.2 ถึง 21.5% น้ำหนักแห้ง (แสดงในตารางที่ 2.12) และการเพิ่มขึ้นของปริมาณไขมันพบว่าทุกการทดลองมีปริมาณไขมันเพิ่มขึ้น อาจเนื่องมาจากในกระบวนการหมักมันสำปะหลังจุลินทรีย์มีการใช้คาร์บอนจากแป้งมันสำปะหลังในการเปลี่ยนเป็นไขมัน จึงทำให้มีปริมาณไขมันเพิ่มขึ้น และผลการเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรต และเยื่อใยพบว่าการใช้ *S. cerevisiae*, *A. niger* และ *R. oryzae* ในการหมักมันสำปะหลังทำให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรต และเยื่อใยลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม เนื่องจากจุลินทรีย์ใช้คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งคาร์บอนในการสร้างพลังงาน และการเพิ่มจำนวนเซลล์ ส่วนการเพิ่มขึ้นของเถ้าในการหมักมันสำปะหลัง อาจเนื่องมาจากการตกค้างของสารอนินทรีย์จากการใส่สารละลายที่เป็นสารอาหารของเชื้อจุลินทรีย์จึงมีผลทำให้ปริมาณเถ้าเพิ่มขึ้น

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 2.12 ผลของการเพิ่มโปรตีนจากการหมักมันสำปะหลังด้วยยีสต์และรา

	Nutrient (%DM)					References
Sample	Protein	Fat	Crude fiber	Carbohydrate	Ash	
Control	4.4[c]	3.6	3.8	85.7[a]	2.1	Oboh and
S. cerevisiae	10.9[a]	4.5	3.2	77.9[a]	3.5	Akindahunsi
						(2003)
Control	4.4	2.6	3.8	-	2.1	Oboh et al. (2002)
A. niger	12.2	5.7	3.0	-	4.5	
Control	4.7[c]	1.1[b]	2.7[a]	90.6[a]	0.9[b]	Oboh and Elusiyan
R. oryzae	8.8[b]	4.5[a]	1.6[b]	76.0[b]	2.9[a]	(2007)
S. cerevisiae	9.6[a]	5.0[a]	1.8[b]	74.5[b]	3.0[a]	
Control	8.2[c]	3.1[a]	12.5[a]	64.6[a]	6.4[b]	Oboh (2006)
Naturally[1]	11.1[b]	3.5[a]	6.5[b]	67.3[a]	6.0[b]	
Inoculated[2]	21.5[a]	2.1[b]	11.7[a]	51.1[b]	7.2[a]	

[a-c]ในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

[1]เป็นการหมักที่ไม่ใส่เชื้อ

[2]เชื้อที่ใช้ในการหมัก คือ *L. delbruckii, L. coryneformis* and *S. cerevisiae* อัตราส่วน 2:1:1

2.10 ผลของการหมักวัตถุดิบอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของสัตว์

2.10.1 ผลของการหมักวัตถุดิบอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของสัตว์ปีก

กากมันสำปะหลังส่วนใหญ่จะนำไปตากแห้งและใช้ผสมในสูตรอาหารสัตว์ เช่น โค สุกร และปลา จากการรวบรวมเอกสารการใช้มันสำปะหลังหมักต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของสัตว์ปีก (แสดงในตารางที่ 2.13) พบว่าสามารถใช้มันสำปะหลังหมักในสูตรอาหารไก่เนื้อและเป็ดเนื้อได้ประมาณ 10 และ 20% ตามลำดับ โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต (กัลยานีและคณะ, 2551; อุษณีย์ภรณ์และคณะ, 2550; พัชรา, 2550) แต่การใช้ในระดับที่สูงขึ้นมีผลทำให้สมรรถนะการเจริญเติบลดลง ทั้งนี้เนื่องจากมันสำปะหลังหมักมีปริมาณเยื่อใยอยู่สูง การใช้ในสูตรอาหารในระดับที่สูงไป จึงลดปริมาณการกินอาหาร ลดประสิทธิภาพการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ และกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตในท้ายที่สุด

ตารางที่ 2.13 ผลการใช้มันสำปะหลังหมักต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของสัตว์ปีก

Treatment	Growth performance					
	Final weight (g)	BW gain (g)	ADG (g/d)	FI (g)	FCR	References
Control	2,242[a]	2,291[a]	109.12[a]	3,857[a]	1.70[b]	กัลยานี และ
5 % fermented cassava meal	2,076[ab]	2,024[ab]	96.37[b]	3,813[a]	1.88[a]	คณะ (2551)[1]
10 % fermented cassava meal	2,126[a]	2,081[a]	99.11[ab]	3,863[a]	1.86[a]	
15 % fermented cassava meal	1,912[b]	1,938[b]	92.35[b]	3,687[ab]	1.90[a]	
20 % fermented cassava meal	1,914[b]	1,869[b]	89.02[b]	3,542[b]	1.90[a]	
NC+Enz[4]	3,067[c]	-	53.81[c]	-	2.26[a]	อุษณีย์ภรณ์
10 % fermented cassava meal	3,338[a]	-	58.79[a]	-	2.07[c]	และคณะ
20 % fermented cassava meal	3,165[b]	-	55.56[b]	-	2.19[b]	(2550)[2]
30 % fermented cassava meal	3,068[c]	-	53.84[c]	-	2.27[a]	
PC[5]	3,215[b]	-	56.46[b]	-	2.16[b]	
Control	-	1,659[a]	-	3,414[a]	2.06[c]	พัชรา (2550)[3]
15 % fermented cassava meal	-	1,459[b]	-	3,242[b]	2.19[bc]	
30 % fermented cassava meal	-	1,431[b]	-	3,199[b]	2.23[b]	
45 % fermented cassava meal	-	1,367[b]	-	3,063[bc]	2.23[b]	
60 % fermented cassava meal	-	1,158[c]	-	2,887[c]	2.49[a]	

[a-c] ในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

[1]ศึกษาการใช้มันสำปะหลังหมักเชื้อรา *Amylomyces rouxii* ในอาหารไก่เนื้อ

[2]ศึกษาการใช้สำปะหลังหมักแบบกึ่งแห้งด้วยเชื้อรา *Aspergillus niger* ในอาหารเป็ดเนื้อ

[3]ศึกษาการใช้มันสำปะหลังหมักโปรตีนสูงในอาหารไก่เนื้อ

[4]Negative control (NC) สูตรอาหารควบคุมปกติและเสริมเอนไซม์ไฟเตส 500 CFU/kg

[5]Positive control (PC) สูตรอาหารควบคุมปกติ

2.10.2 ผลของการหมักวัตถุดิบอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของสุกร

จากการศึกษาการใช้มันสำปะหลังหมักโปรตีนสูงในอาหารสุกรหย่านม และสุกรระยะรุ่น-ขุน พบว่าสุกรมีการย่อยได้ ของวัตถุแห้ง พลังงาน และโปรตีนค่อนข้างต่ำ (อุทัย และคณะ, 2532; อโณชา และอุทัย, 2530) และการศึกษาการใช้มันสำปะหลังหมักโปรตีนสูงทดแทนปลายข้าวในอาหารลูกสุกร พบว่าสามารถใช้มันสำปะหลังหมักโปรตีนสูงในสูตรอาหารได้ถึงระดับ 50% หรือทดแทนปลายข้าวได้ 100% แต่ต้นทุนการผลิตจะสูง เพราะการใช้มันสำปะหลังหมักโปรตีนสูงในสูตรอาหารเพิ่มขึ้น จำเป็นต้องเพิ่มระดับไขมันในอาหารให้สูงขึ้นด้วย ดังนั้นจึงไม่ควรใช้มันสำปะหลังหมักโปรตีนสูงเกิน 30% จึงจะทำให้สมรรถนะการผลิตสูงและคุ้มทุน (สินชัย และคณะ, 2530) นอกจากนี้ สินชัย และนวลจันทร์ (2530) ได้ศึกษาการใช้มันสำปะหลังหมักเพิ่มโปรตีนจากเชื้อรา และยีสต์ เพื่อทดแทนปลายข้าวในอาหารสุกรรุ่น-ขุน พบว่าสุกรสามารถใช้มันสำปะหลังหมักได้ในระดับ 40% ของสูตรอาหาร โดยไม่มีผลกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหาร ส่วนสุกรขุนสามารถใช้มันสำปะหลังหมักได้ถึง 60% นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้มันสำปะหลังหมัก มีผลทำให้ความหนาไขมันสันหลังของสุกรต่ำกว่าการใช้ปลายข้าว ทั้งนี้อาจเกิดจากการใช้มันสำปะหลังหมักเพิ่มโปรตีนในสูตรอาหาร มีผล ทำให้สุกรสามารถใช้ประโยชน์จากแป้งได้เต็มที่ จึงเหลือเก็บสะสมเป็นไขมันสันหลังน้อยกว่ากลุ่มควบคุม

2.11 การใช้เอนไซม์ย่อยเยื่อใย (Non-starch polysaccharides degrading enzymes) ในอุตสาหกรรมการผลิตไก่เนื้อ

พอลิแซคคาไรด์ที่ไม่ใช่แป้ง (Non-starch polysaccharides, NSP) หรือเยื่อใย เป็นคาร์โบไฮเดรตโครงสร้างของเซลล์พืช จัดเป็นเยื่อใยที่มีมากในเมล็ดธัญพืช ซึ่งเป็นสารต่อต้านการใช้โภชนะที่สำคัญที่พบในวัตถุดิบอาหารสัตว์ สัตว์ไม่สามารถย่อยสลายสารเหล่านี้ได้ ประกอบกับในปัจจุบันมีการใช้ผลพลอยได้ทางการเกษตรหรืออุตสาหกรรมใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์มากขึ้น เช่น กากมันสำปะหลัง กากมะพร้าว กากเนื้อเมล็ดในปาล์มน้ำมัน เป็นต้น ซึ่ง วัตถุดิบทดแทนเหล่านี้มีเยื่อใยเป็นองค์ประกอบที่สูง ทำให้สัตว์นำไปใช้ประโยชน์ได้ค่อนข้างต่ำ ซึ่งอาจส่งผล กระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของสัตว์ได้ ดังนั้นการเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อในอาหารสัตว์ จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ได้รับความสนใจ โดยเอนไซม์ในกลุ่มย่อยเยื่อใยที่มีการเสริมในอาหารสัตว์ เช่น ไซลาเนส เซลลูเลส กลูคาเนส เพคติเนส และแมนแนนเนส เป็นต้น ซึ่งรายละเอียดการใช้เอนไซม์ในกลุ่มดังกล่าวได้แสดงไว้ในตารางที่ 2.14 ซึ่งการเสริมมีทั้งในรูปแบบเดี่ยวและแบบรวม (Adeola and Cowieson, 2011)

ตารางที่ 2.14 แสดงชนิดและปริมาณของเอนไซม์ที่เสริมในอาหารไก่เนื้อ

Enzyme	Level	Diet	References
Cellulase, pectinase Cellulase, xylanase+glucanase Cellulase, pectinase, xylanase+glucanase Cellulase, pectinase, xylanase+glucanase, mananase+cellulose	0.1 g/kg	Wheat	Meng et al. (2005)
Xylanase, protease, amylase	0.1 g/kg	Corn, soybean	Zanella et al. (1999)
Xylanase	0.02 g/kg	Whole wheat	Engberg et al. (2004)
Xylanase, glucanase, pectinase, cellulase, mannanase, galactanase	[1]	Corn, soybean meal, canola meal	Meng and Slominsky (2005)
Cellulase, glucanase, xylanase, pectinase[2] Cellulase, glucanase, xylanase, pectinase[3]	0.15 g/kg 0.40 g/kg	Canola meal, sunflower meal	Kocher et al. (2000)
Glucanase, pentosanase, hemicellulase	1 g/kg	Organic corn, organic soybean	Buchanan et al. (2007)[4]
Xylanase, glucanase, cellulase, pectinase	1 g/kg	Wheat	Gao et al. (2007)
Xylanase, glucanase	0.05 g/kg	Corn and sunflower meal	Mushtaq et al. (2006)
Xylanase	0.1 g/kg	Wheat	Vandeplas et al. (2009)

[1]ประกอบด้วย xylanase 1,000 U, glucanase 400 U, pectinase 1,000 U, cellulase 120 U, mannanase 280 U และ galactanase 180 U/ kg diet

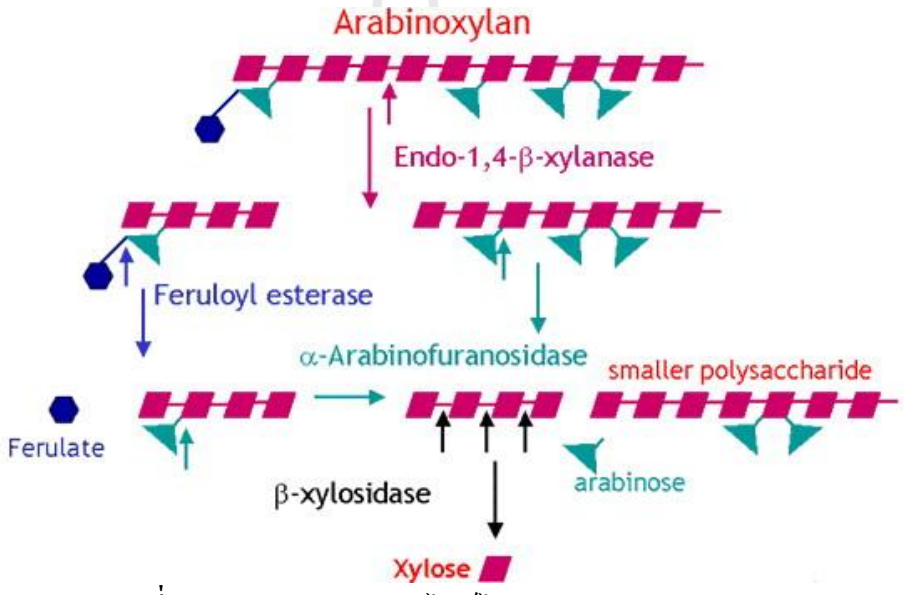
[2]เป็นเอนไซม์ที่ได้จากจุลินทรีย์ *Trichoderma viride*

[3]เป็นเอนไซม์ที่ได้จากจุลินทรีย์ *Aspergillus aculeatus*

[4]เป็นงานทดลองที่ทำในไก่อินทรีย์

กากมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบที่มีเยื่อใยสูง ซึ่งเยื่อใยโดยส่วนใหญ่เป็นเฮมิเซลลูโลส ประกอบไปด้วยโครงสร้างของ arabinogalactans, arabinoxylans, glucuronoarabinoxylans, glucoronoxylans, xylo-glucans และ β-Glucans ซึ่งโดยส่วนใหญ่แล้วเยื่อใยประเภทเฮมิเซลลูโลสจะมีไซแลนเป็นองค์ประกอบหลัก ดังนั้นในงานทดลองครั้งนี้จึงได้คัดเลือกเอนไซม์ไซลาเนสเพื่อเสริมในอาหารที่มีกากมันสำปะหลังเป็นส่วนประกอบ

เอนไซม์ไซลาเนสเป็นเอนไซม์ย่อยเยื่อใยชนิดเฮมิเซลลูโลส ซึ่งมีความจำเพาะต่อการย่อยไซแลน โดยเอนไซม์ ไซลาเนสจะย่อยโครงสร้างของไซแลนกลายเป็นไซโลโอลิโกแซคคาร์ไรด์ จากโครงสร้างสายยาวให้กลายเป็นสายสั้นและถูกเอนไซม์ชนิดอื่นเข้าไปย่อยสลายเพิ่มเติม และได้ผลผลิตสุดท้ายออกมาเป็นไซโลส (xylose) หรือน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว โดยลักษณะการทำงานของเอนไซม์ไซลาเนสได้แสดงไว้ในภาพที่ 2.3



ภาพที่ 2.3 การทำงานของเอนไซม์ไซลาเนส (xylanase)

ที่มา: Challenge group (2004)

2.12 ผลของการเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใย (Non-starch polysaccharides degrading enzymes) ในอาหารไก่เนื้อ

จากการรวบรวมเอกสารทางการวิจัย ที่เกี่ยวข้องกับการใช้เอนไซม์ย่อยเยื่อใยในอาหารไก่เนื้อ ซึ่งได้แสดงไว้ในตารางที่ 2.15 โดยสรุป การเสริมเอนไซม์สามารถเพิ่มปริมาณการกินอาหารของไก่เนื้อ ทั้งนี้ อาจเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ซึ่งทำหน้าที่ในการย่อยเยื่อใย ส่งผลให้อาหารมีความฟ่ามลดลง (Mathlouthi et al., 2002; Alam et al., 2003; Amerah et al., 2009; Hajati et al., 2009) ไก่กินอาหารได้มากขึ้น และ มีผลในการเพิ่มน้ำหนักตัว นอกจากนี้การเสริมเอ็นไซม์ย่อยเยื่อใยยังช่วยลดปัญหาของเยื่อใยที่จะไปขัดขวางการย่อยได้ของโภชนะชนิดอื่นๆ รวมถึงยังช่วยปลดปล่อยโภชนะบางตัว เช่น โปรตีน ไขมัน วิตามิน หรือแร่ธาตุต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบอยู่ภายในผนังเซลล์ของพืช ส่งผลให้เอ็นไซม์ที่หลั่งจากร่างกายสัตว์ สามารถย่อยโภชนะเหล่านี้ได้เพิ่มขึ้น ส่งผลให้สัตว์มีประสิทธิภาพการใช้อาหารสูงขึ้น (Mathlouthi et al., 2002; Alam et al., 2003; Gao et al., 2007; Amerah et al., 2009 and Hajati et al., 2009) ธิดาพรและคณะ (2552) ศึกษาการเสริมเอนไซม์ในอาหารที่มีกากมันสำปะหลังเป็นส่วนประกอบ พบว่าการเสริมเอ็นไซม์ไม่มีผลในการเพิ่มน้ำหนักตัว แต่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหารของไก่เนื้อได้ สำหรับชนิดของเอ็นไซม์ที่ใช้เสริมในอาหาร ที่มีวัตถุดิบในกลุ่มของข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าวไรย์ หรือกากถั่วเหลือง เป็นส่วนประกอบ ส่วนใหญ่จะเป็นเอนไซม์ในกลุ่มไซลาเนสและกลูคาเนส (Mathlouthi et al. (2002); Alam et al. (2003); Wang et al. (2005); Meng and Slominski (2004); Meng et al. (2005); Amerah et al. (2009); Hajati et al., 2009) เนื่องจากเยื่อใยส่วนใหญ่ของวัตถุดิบเหล่านี้เป็นชนิดเฮมิเซลลูโลสที่มีไซแลนเป็นองค์ประกอบสูง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 2.15 ผลของการเสริมเอ็นไซม์ย่อยเยื่อใยในอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ

References	Age (day)	Treatment	FI (g)	BW Gain (g)	FCR
Kocher et al. (2000)	7 - 28 d	Canola meal - control	1,902[b]	960[b]	1.99[a]
		Canola meal + enzyme A[1]	1,945[b]	1,012[b]	1.92[a]
		Canola meal + enzyme B[2]	1,885[b]	994[b]	1.90[ab]
		Sunflower meal - control	2,201[a]	1,241[a]	1.78[c]
		Sunflower meal + enzyme A[1]	2,144[a]	1,220[a]	1.76[c]
		Sunflower meal + enzyme B[2]	2,154[a]	1,194[a]	1.80[bc]
Mathlouthi et al. (2002)	4 - 18 d	Corn-base diet	478[a]	313[a]	0.656**[a]
		Rye-base diet	397[b]	178[b]	0.437**[b]
		Rye-base diet + enzyme[3]	524[a]	281[a]	0.534**[c]
Alam et al. (2003)	42 d	Corn	3,271[b]	1,371[b]	2.47[a]
		Corn + alquerzim	3,310[a]	1,525[a]	2.24[b]
		Corn + roxazyme	3,332[a]	1,563[a]	2.19[c]
		Corn + feedzyme	3,298[a]	1,519[a]	2.24[b]
Meng et al. (2004)	18 d	Wheat	682	466[a]	1.46[a]
		Wheat + carbohydrase	692	491[b]	1.41[b]
Wang et al. (2005)	7 - 42 d	Control (C): wheat –SBM	107.8*	1,831	2.07
		C + enzyme[4] (0.02%)	105.5*	1,861	1.98
		C + enzyme[4] (0.04%)	105.8*	1,887	1.96
		C + enzyme[4] (0.06%)	106.8*	1,907	1.96
		C + enzyme[4] (0.08%)	108.2*	1,918	1.98
		C + enzyme[4] (0.10%)	107.6*	1,923	1.96
		P-value : linear	0.40	<0.01	0.03
Meng and Slominski (2005)	5 – 18 d	Corn diet – control	601	430	1.40[a]
		Corn diet – enzyme[5]	619	455	1.36[b]
		Corn–SBM diet	637	473	1.35
		Corn–SBM diet + enzyme[5]	653	496	1.32
Meng et al. (2005)	5 – 18 d	None (control: wheat-SBM)	668	436[b]	1.53[a]
		C + P[6]	687	459[a]	1.50[b]
		C + XG[6]	695	470[a]	1.48[b]
		C + P + XG[6]	678	456[a]	1.49[b]
		C + P + XG + MC[6]	676	466[a]	1.45[c]

ตารางที่ 2.15 ผลของการเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใยในอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ (ต่อ)

References	Age (day)	Treatment	Feed Intake (g)	Body Weight Gain (g)	FCR
Slominski et al. (2006)	5 - 18 d	Flaxseed diet	675	445	1.48[a]
		Flaxseed diet + enz[7](0.002%)	685	467	1.47[ab]
		Flaxseed diet + enz[7](0.01%)	680	465	1.46[ab]
		Flaxseed diet + enz[7](0.05%)	681	470	1.45[b]
Gao et al. (2007)	7 - 49 d	Wheat	4,026	1,652[b]	2.43[a]
		Wheat + xylanase (0.1 %)	4,169	1,775[a]	2.34[b]
Olukosi et al. (2007)	21 d	Control (C): Rye–Wheat– SBM	811	513	0.643**
		C + xylanase 400 U	842	539	0.645**
		C + xylanase 800 U	866	571	0.659**
		C + xylanase 1600 U	779	506	0.648**
		C + xylanase 3200 U	882	593	0.672**
		C + xylanase 32000 U	906	605	0.668**
Tahir et al. (2008)	15 – 27 d	CP21 (Corn – SBM)	1,143	708[b]	1.63[ab]
		CP21 – enzyme[8]	1,123	774[a]	1.45[c]
		CP19 (Corn – SBM)	1,043	629[c]	1.68[a]
		CP19 – enzyme[8]	1,099	701[b]	1.57[b]
Hajati et al. (2009)	1 – 44 d	Corn–SBM–Wheat Diet	5,305[b]	2,850[b]	1.86[a]
		Corn–SBM–Wheat Diet + Enz.[9]	5,350[a]	2,960[a]	1.80[b]
Sundu et al. (2008)	42 d	Copra Meal (CM)	3,488	2,291[b]	1.59
		Copra Meal (CM) + enzyme[10]	3,503	2,326[a]	1.55
Amerah et al. (2009)	21 d	Soft wheat	1,261[c]	912[b]	1.38[a]
		Soft wheat + xylanase	1,338[a]	958[c]	1.39[a]
		Hard wheat	1,401[b]	991[a]	1.41[a]
		Hard wheat + xylanase	1,319[a]	977[a]	1.35[b]
Luo et al. (2009)	1 - 42 d	Control (C): Wheat–Corn–SBM	3,973	1,925	2.07[a]
		C + enzyme[11] 500 U/kg	3,824	2,052	1.86[b]
		C + enzyme[11] 1,000 U/kg	3,998	2,098	1.91[ab]
		C + enzyme[11] 5,000 U/kg	3,687	2,011	1.84[b]

ตารางที่ 2.15 ผลของการเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใยในอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ (ต่อ)

References	Age (day)	Treatment	Feed Intake (g)	Body Weight Gain (g)	FCR
ธิดาพร และคณะ (2552)	45 d	Cassava pulp 0%	4,549	2,776	1.64
		Cassava pulp 5%	4,422	2,711	1.64
		Cassava pulp 10%	4,515	2,702	1.67
		Cassava pulp 0% + enzyme[12]	4,295	2,758	1.56
		Cassava pulp 5% + enzyme[12]	4,372	2,716	1.61
		Cassava pulp 10% + enzyme[12]	4,181	2,532	1.65
		Level of enzyme[12]			
		0 ppm	4,495[a]	2,730	1.65[a]
		200 ppm	4,283[b]	2,669	1.61[b]
		Level of cassava pulp			
		0%	4,422	2,767[a]	1.60
		5%	4,397	2,713[a]	1.62
		10%	4,348	2,617[b]	1.66

[a–c]Means within a column with no common superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

[1]Enzyme A = contained cellulase (10,800 U/g), endo-1,3 (4) β-glucanase (21,400 U/g), and endo-1,4- β-xylanase (37,700 U/g) activities as well as pectinase side activity (177 U/g measured as polygalacturonase): added at 150 ppm.

[2]Enzyme B = contained endo-1,3 (4)-β -glucanase (54.7 fungal xylanase U/g), hemicellulase (15,000 hemicellulase U/g), and pectinase (3,017 U/g, measured as polygalacturonase) added at 400 ppm.

[3]xylanase and β-glucanase added 20 mg/kg of diet.

[4]Enzyme mixture contained 6,225 U/g xylanase and 3,200 U/g β-glucanase.

[5]Cocktail enzymes contained xylanase (1,000 U/kg), Glucanase (400 U/kg), Pectinase (1,000 U/Kg), Cellulase (120 U/kg), Mannanase (280 U/kg) and Galactanase (180 U/kg).

[6]C=cellulase; P=pectinase; XG=xylanase and glucanase; MC=mannanase and cellulose, added at 0.1 g/kg of diet.

[7]C=cellulase (340 U/g); P=pectinase (10,000 U/g); XG=xylanase (63,600 U/g) and glucanase (48,300 U/g).

[8]Cellulase (0.33 U/g), Hemicellulase (2 U/g) and Pectinase (2 U/g).

[9]Arabinoxylanase and β-glucanase added at 500 mg/kg of diet .

[10]Allzyme SSF (cellulase, pentosanase, protease, phytase, glucanase, amylase and pectinase) added at 0.4 g/kg diet and Hemicell (mannanase) added at 1 g/kg diet.

[11]Microbial xylanase containing 10,000 U/g xylanase activity.

[12]Cocktail enzyme (WheatEase®-M MP) contained β-mannanase (200 MU/kg), xylanase 440 (MU/kg), β-glucanase (230-270 MU/kg), α-Amylase (80-120 MU/kg), cellulase (80-100 MU/kg), pectinase (2-3 MU/kg)

*Feed Intake (g/d)

** Gain/Feed

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

ในการศึกษาครั้งนี้แบ่งการทดลองออกเป็น 5 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ศึกษาหาวิธีการเพิ่มคุณค่าทางโภชนะของกากมันสำปะหลังโดยวิธีการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ การทดลองที่ 2 ศึกษาการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะจากกากมันสำปะหลังที่ได้จากการปรับปรุงคุณภาพโดยวิธีการหมักในอาหารไก่เนื้อ การทดลองที่ 3 ศึกษาผลการใช้กากมันสำปะหลังหมักต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และคุณภาพซากของไก่เนื้อ การทดลองที่ 4 ศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังร่วมกับการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสที่ระดับต่างๆ ต่อการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในไก่เนื้อ และการทดลองที่ 5 ศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังร่วมกับการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสที่ระดับ 0.1% ต่อการสมรรถนะการเจริญเติบโตและคุณภาพซากของไก่เนื้อ

3.1 การทดลองที่ 1: ศึกษาหาวิธีการเพิ่มคุณค่าทางโภชนะของกากมันสำปะหลังโดยวิธีการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์

เป็นการศึกษาการหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อจุลินทรีย์ (ยีสต์ และรา) 3 ชนิด คือ เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และ *Candida utilis* และเชื้อรา *Aspergillus oryzae* ร่วมกับการใช้แหล่งไนโตรเจน (ยูเรีย) ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน 6 ระดับ คือ 0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.25% โดยทำการเก็บตัวอย่างทุกวันเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นทำการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่พบว่าให้ผลต่อการเพิ่มคุณค่าทางโภชนะดีที่สุดมาใช้หมักกากมันสำปะหลังเพื่อนำไปใช้เลี้ยงไก่เนื้อต่อไป

3.1.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักกากมันสำปะหลังครั้งนี้ คือ เชื้อรา *A. oryzae* (3019) ซึ่งได้จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ทำการ streak เชื้อบนจานอาหาร Potato-Dextrose-Agar (PDA) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 3 วัน และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อนำไปใช้ในการหมัก ส่วนเชื้อยีสต์ *C. utilis* (5046) ซึ่งได้จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย และเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* (EC118) ที่ได้จากห้องปฏิบัติการอาหาร อาคารเครื่องมือ 3 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ทำการ spread plate ลงบนอาหาร Yeast-Malt-Agar (YMA) โดยนำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 rpm ที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 1 วัน และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C ก่อนการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์มีการล้างเซลล์โดยนำไปปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ให้เซลล์ตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 3,000 rpm อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 15 นาที ภายหลังการปั่นเหวี่ยงเทอาหารทิ้ง จากนั้นเติมสารละลายน้ำเกลือ 0.85% แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่

ความเร็วรอบ 3,000 rpm อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 15 นาที ภายหลังการปั่นเหวี่ยงเทส่วนของน้ำเกลือที่แยกชั้นจากเซลล์จุลินทรีย์ทิ้ง ทำซ้ำอีกครั้ง เพื่อให้เซลล์จุลินทรีย์แยกชั้นออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นละลายเซลล์จุลินทรีย์ด้วยน้ำเกลือ 0.85% ทำการนับจำนวนจุลินทรีย์โดยใช้ฮีมาไซโตมิเตอร์ (heamacytometer) และปรับจำนวนเซลล์ให้มีความเข้มข้น $1x10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อต่อไป

3.1.2 วิธีการหมัก

นำกากมันสำปะหลังสดจำนวน 50 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปนึ่งด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นเติมยูเรียซึ่งใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.25% ลงในขวดรูปชมพู่แต่ละใบ แล้วจึงเติมสปอร์ของเชื้อจุลินทรีย์ *S. cerevisiae, C. utilis* และ *A. oryzae* ($1x10^8$ เซลล์/มิลลิลิตร) ที่ระดับ 1% ของกากมันสำปะหลัง (น้ำหนักเปียก) หลังจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 7 วัน ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างทุกวัน เมื่อเสร็จสิ้นการหมักนำกากมันสำปะหลังที่ได้ไปอบในตู้อบ (oven dry) ที่อุณหภูมิ 55°C และเก็บตัวอย่างไว้เพื่อรอการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีต่อไป

3.1.3 การเก็บข้อมูลและการวิเคราะห์ทางเคมี

1. วิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลังหมัก ได้แก่ ความชื้นและโปรตีน ตามวิธีการของ AOAC (1990)

2. วัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธีการ Dinitrosalicylic acid (DNS) micro method (Miller, 1959)

3. วิเคราะห์แอมโมเนียคัลไนโตรเจน (Ammoniacal nitrogen) (TISO, 1983)

4. ทดสอบยูเรียโดยการวิเคราะห์ดัดแปลงจากวิธีการของเยาวมาลย์ (2523)

3.1.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) โดยมีการจัดทรีทเมนต์แบบ 3x6 Factorial in CRD with Repeated Measurements ซึ่งประกอบด้วยปัจจัยของเชื้อจุลินทรีย์ 3 ระดับคือ เชื้อ *S. cerevisiae*, *C. utilis* และ *A. oryzae* และปัจจัยของยูเรีย 6 ระดับคือ 0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.25% วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกลุ่มด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DUNCAN) โดยใช้โปรแกรมสถิติสำเร็จรูป SAS (1996)

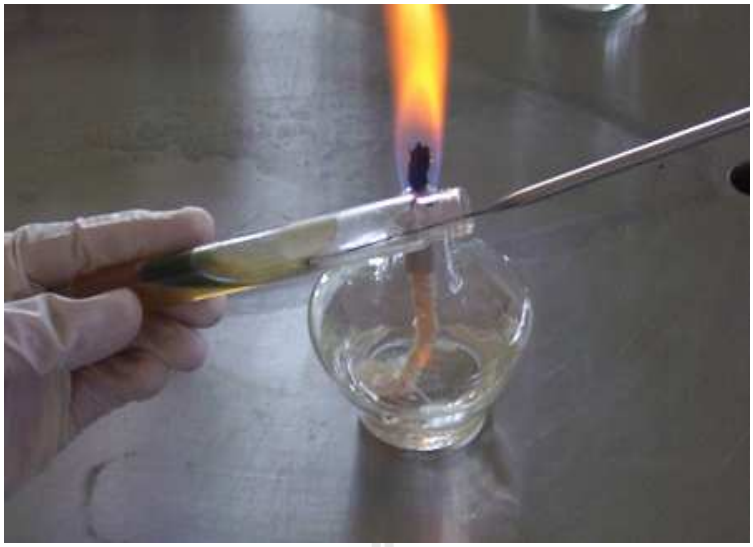
3.2 การทดลองที่ 2: ศึกษาการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะจากกากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่เนื้อ

เพื่อศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักต่อการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในไก่เนื้อ โดยการทดลองนี้ได้ทำการคัดเลือกสภาวะการหมักที่พบว่าให้ผลในการเพิ่มโปรตีนที่ดีที่สุดมาใช้ในการหมักกากมันสำปะหลังเพื่อนำไปใช้ในการประกอบสูตรอาหารสำหรับไก่เนื้อ โดยพบว่าการหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. oryzae* ร่วมกับยูเรียที่ระดับ 0.75% หมักเป็นเวลา 4 วัน เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุด

3.2.1 การเตรียมสารละลายสปอร์เชื้อรา *A. oryzae*

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *A. oryzae* บนอาหาร PDA ในหลอดเลี้ยงเชื้อ บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30˚C เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นเติมสารละลายน้ำเกลือ 0.85% ที่นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121˚C เป็นเวลา 15 นาที ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ใช้เข็มเขี่ยเพื่อลอกเอาเชื้อสปอร์ของรา *A. oryzae* ออกจากอาหาร PDA เพื่อใช้ในการเตรียมหัวเชื้อรา *A. oryzae* ต่อไป โดยภาพแสดงการเจริญของเชื้อรา *A. oryzae* และการเตรียมสารละลายสปอร์เชื้อรา *A. oryzae* ได้แสดงไว้ในภาพที่ 3.1 และ 3.2 ตามลำดับ

ภาพที่ 3.1 แสดงการเจริญของเชื้อรา *A. oryzae*



ภาพที่ 3.2 แสดงการเตรียมสารละลายสปอร์เชื้อรา *A. oryzae*

3.2.2 การเตรียมหัวเชื้อรา *A. oryzae*

นำข้าวสารปริมาณ 1,000 กรัม แช่ในน้ำสะอาดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปนึ่งด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 121˚C นาน 15 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็นในถาด นำสารละลายเชื้อรา *A. oryzae* ที่เตรียมไว้เจือจางกับน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อมาแล้วที่อุณหภูมิ 121˚C นาน 15 นาที ปริมาณ 100 มิลลิลิตร คลุกให้ทั่วบนข้าวสารที่ผ่านการนึ่ง กระจายข้าวสารให้เต็มถาด ปิดด้วยกระดาษฟอยด์ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30˚C เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 55˚C เป็นเวลา 2 วัน และบดละเอียดให้มีขนาดเล็กประมาณ 1.0 มิลลิเมตร ตรวจนับสปอร์ของเชื้อด้วยวิธีการนับจำนวนโคโลนีจะได้จำนวนหัวเชื้อรา *A. oryzae* ที่ใช้ในการหมักกากมันสำปะหลัง โดยรูปภาพแสดงข้าวสารที่ผ่านการนึ่งด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 121˚C นาน 15 นาที และข้าวสารที่ผ่านการหมักด้วยเชื้อ *A. oryzae* เป็นเวลา 4 วัน ได้แสงไว้ในภาพที่ 3.3 และ 3.4 ตามลำดับ

ภาพที่ 3.3 ข้าวสารที่ผ่านการนึ่งด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที

ภาพที่ 3.4 ข้าวสารที่ผ่านการหมักด้วยเชื้อ *A. oryzae* เป็นเวลา 4 วัน

3.2.3 การเตรียมกากมันสำปะหลังหมัก

นำกากมันสำปะหลังจำนวน 50 กิโลกรัมแบ่งใส่ในถุงพลาสติก นำไปนึ่งด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นในถังหมักที่ทำจากพลาสติกมีลักษณะเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 58 x 107 เซนติเมตร จากนั้นเติมหัวเชื้อรา *A. oryzae* 1% และยูเรีย 0.75% ของกากมันสำปะหลังสด คลุกเคล้าให้เข้ากัน บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน ทำการกลับกากมันสำปะหลังวันละครั้งทุกวันเป็นเวลา 4 วัน เมื่อครบเวลานำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นนำไปบดละเอียดให้มีขนาดเล็กประมาณ 1.0 มิลลิเมตร ก่อนนำกากมันสำปะหลังหมักไปใช้ในการประกอบสูตรอาหารทดลอง ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่างๆ ของกากมันสำปะหลังหมัก เช่น ความชื้น เถ้า ไขมัน เยื่อใย แคลเซียม และฟอสฟอรัส ตามวิธีการของ AOAC (1990) และวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนตามวิธี AOAC (1990) โดยองค์ประกอบทางโภชนะของกากมันสำปะหลังหมักได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.1

วัดพลังงานใช้ประโยชน์ได้ (Metabolizable energy) ตามวิธีการของ Sibbald (1976) เพื่อนำค่าที่ได้ไปประกอบสูตรอาหาร โดยมีวิธีการดังนี้ คือ ใช้ไก่เนื้อโตเต็มวัยเพศผู้น้ำหนักประมาณ 2.2 กิโลกรัม ทั้งหมด 12 ตัว นำมาเลี้ยงบนกรงขังเดี่ยวที่มีถาดรองรับมูลใต้กรง ให้ไก่อดอาหารเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (แต่ไม่อดน้ำ) เมื่อครบกำหนดเวลาการอดอาหาร แบ่งไก่ออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรกให้อดอาหารต่อจนเสร็จสิ้นการทดลอง (24 ชั่วโมง) ส่วนกลุ่มที่สองทำการป้อน (force feeding) กากมันสำปะหลังจำนวน 20 กรัม หลังจาก 24 ชั่วโมง ทำการเก็บและบันทึกน้ำหนักมูลของไก่ทุกตัว นำมูลที่ได้ทั้งหมดไปอบให้แห้ง และบด เพื่อนำไปวัดค่าพลังงาน ทำการคำนวณเพื่อหาค่าพลังงานการใช้ประโยชน์ได้ของกากมันสำปะหลังหมัก

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.2.4 สัตว์ทดลอง

ใช้ไก่เนื้อเพศผู้พันธุ์อาร์เบอร์ เอเคอร์ (Arbor Acres) อายุ 1 วัน น้ำหนักเฉลี่ย 45 กรัม เลี้ยงจนถึงอายุ 11 วัน จึงสุ่มไก่จำนวน 49 ตัว ขึ้นกรงทดลองแบบขังเดี่ยว เลี้ยงไก่บนกรงจนถึงอายุ 14 วัน เพื่อให้ไก่ปรับตัวให้ชินกับสภาพแวดล้อม เมื่อไก่อายุ 15 วัน ทำการแบ่งไก่ออกเป็น 7 กลุ่มๆ ละ 7 ซ้ำ มีน้ำหนักตัวเฉลี่ย 438 กรัม โดยไก่ในแต่ละหน่วยการทดลองมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยใกล้เคียงกัน ใช้แผนการทดลองแบบ CRD มีการให้อาหารและน้ำเต็มที่ (*ad libitum*) ไก่ได้รับอาหารทดลองเป็นเวลา 10 วัน เก็บมูลเพื่อนำไปหาค่าการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ ในช่วง 7-10 วันหลังจากได้รับอาหารทดลอง

3.2.5 อาหารทดลอง

เป็นการทดสอบการใช้กากมันสำปะหลัง ที่ได้จากการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะโดยวิธีการหมักในอาหารไก่เนื้อ โดยมีการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับต่างๆ (ใช้กากมันสำปะหลังหมักทดแทนข้าวโพด) คือ 0, 4, 8, 12, 16, 20 และ 24% ในสูตรอาหาร โดยอาหารทั้งหมดคำนวณให้มีระดับของโปรตีนและพลังงานเท่ากัน ตามคำแนะนำของ NRC (1994) โดยรายละเอียดองค์ประกอบทางโภชนะของกากมันสำปะหลังหมักได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.1 ส่วนรายละเอียดสูตรอาหารทดลองได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.2 อาหารทดลองที่ใช้แบ่งออกเป็น 7 กลุ่ม ประกอบด้วย

กลุ่มที่ 1 : สูตรควบคุม (control)
กลุ่มที่ 2 : กากมันสำปะหลังหมัก 4%
กลุ่มที่ 3 : กากมันสำปะหลังหมัก 8%
กลุ่มที่ 4 : กากมันสำปะหลังหมัก 12%
กลุ่มที่ 5 : กากมันสำปะหลังหมัก 16%
กลุ่มที่ 6 : กากมันสำปะหลังหมัก 20%
กลุ่มที่ 7 : กากมันสำปะหลังหมัก 24%

3.2.6 การเก็บข้อมูล

การศึกษาการย่อยได้ (digestibility)

เก็บมูลทั้งหมดที่ไก่ขับถ่ายออกมาวันละ 1 ครั้ง ในเวลา 10.00 น. ในช่วง 4 วันสุดท้ายของการทดลอง โดยเก็บมูลในถาดพลาสติกที่รองไว้ใต้กรง สเปรย์มูลที่เก็บได้ในแต่ละวันด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 5% เพื่อป้องกันการสูญเสียไนโตรเจน นำมูลของไก่ที่ได้ในแต่ละวันไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 55˚C บด เก็บใส่ถุงพลาสติก เพื่อรอการวิเคราะห์ทางเคมีต่อไป

ตารางที่ 3.1 องค์ประกอบทางโภชนะของกากมันสำปะหลังหมัก (as fed basis)

Component	%
Dry matter	94.39
Crude protein	11.82
Ether extract	0.15
Crude fiber	10.60
Ash	1.58
Calcium	0.07
Total phosphorus	0.03
Starch	35.54
TME, kcal/kg	2,049
Amino acid (g/100 g)	
Aspartic acid	0.143
Serine	0.101
Glutamic acid	0.250
Glycine	0.086
Histidine	0.040
Arginine	0.136
Threonine	0.107
Alanine	0.137
Proline	0.092
Valine	0.096
Lysine	0.130
Isoleucine	0.072
Leucine	0.131
Phenylalanine	0.078

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 3.2 ส่วนประกอบของสูตรอาหารไก่เนื้อระยะแรก (0-21 วัน) (การทดลองที่ 2)

		Fermented cassava pulp					
Item	Control	4%	8%	12%	16%	20%	24%
Ingredient (%)							
Corn	54.50	50.50	46.50	42.50	38.50	34.50	30.50
Soybean meal	20.61	20.28	19.94	19.60	19.25	18.90	18.49
Fish meal	8.50	8.50	8.50	8.50	8.50	8.50	8.50
Full-fat soybean	10.50	10.50	10.50	10.50	10.50	10.50	10.50
Fermented cassava pulp	0.00	4.00	8.00	12.00	16.00	20.00	24.00
Soybean oil	1.91	2.46	3.01	3.57	4.12	4.66	5.19
Cassava starch	1.25	1.02	0.79	0.56	0.34	0.13	0.00
Salt	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
DL-Met	0.23	0.24	0.26	0.27	0.29	0.31	0.32
$CaCO_3$	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70
Dicalcium P	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Premix[1]	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Calculated composition (%)							
ME, kcal/kg	3104	3104	3104	3104	3104	3104	3104
Met + Cys	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9
Lys	1.2	1.2	1.2	1.1	1.1	1.1	1.1
Ca	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Available P	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
Analyzed composition (%)							
DM	88.09	88.36	88.50	88.36	89.11	89.20	89.80
CP	23.33	23.03	23.39	23.95	23.82	23.63	23.61
CF	3.68	4.41	4.60	4.82	5.37	5.60	6.46

[1]Premix (0.5%) provided the following per kilogram of diet: vitamin A, 15,000 IU; vitamin D3, 3,000 IU; vitamin E, 25 IU; vitamin K3, 5 mg; vitamin B1, 2 mg; vitamin B2, 7 mg; vitamin B6, 4 mg; vitamin B12, 25 µg; 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.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.2.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติ ด้วยแผนการทดลอง CRD เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มด้วยวิธี DUNCAN และวิเคราะห์หาแนวโน้มของการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับต่างๆ ด้วยวิธี Orthogonal polynomials contrast โดยใช้โปรแกรมสถิติสำเร็จรูป SAS (1996)

3.3 การทดลองที่ 3: ศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และคุณภาพซากของไก่เนื้อ

เพื่อศึกษาผลของการใช้กากมันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักที่ระดับต่างๆ ในอาหารไก่เนื้อต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และคุณภาพซากของไก่เนื้อ

3.3.1 การเตรียมกากมันสำปะหลังหมัก

นำกากมันสำปะหลังที่ผ่านกระบวนการหมักมาทำให้แห้ง หลังจากนั้นนำไปบดให้มีขนาดเล็กประมาณ 1.0 มิลลิเมตร และนำกากมันสำปะหลังแห้งที่ได้มาวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีก่อนนำไปใช้ประกอบสูตรอาหารทดลอง

3.3.2 สัตว์ทดลอง

ใช้ไก่เนื้อเพศผู้พันธุ์อาร์เบอร์ เอเคอร์ (Arbor Acres) อายุ 1 วัน น้ำหนักเฉลี่ย 44 กรัม จำนวน 270 ตัว แบ่งไก่ออกเป็น 6 กลุ่มๆ ละ 3 ซ้ำๆ ละ 15 ตัว ใช้แผนการทดลองแบบ CRD มีการให้อาหารและน้ำแบบเต็มที่ (*ad libitum*) ทำการเลี้ยงไก่แบบปล่อยบนพื้นคอกปูด้วยแกลบ และกกลูกไก่โดยใช้หลอดไฟเพื่อให้ความอบอุ่น มีการกลับแกลบทุกวัน เพื่อป้องกันการเกิดก๊าซแอมโมเนียภายในโรงเรือน ไก่ทดลองจะได้รับวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล และหลอดลมอักเสบเมื่ออายุ 7 วัน และวัคซีนกัมโบโรเมื่ออายุ 14 วัน

3.3.3 อาหารทดลอง

อาหารทดลองเป็นการใช้กากมันสำปะหลังหมักในสูตรอาหารไก่เนื้อ โดยอาหารทดลองแบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม ประกอบด้วย

กลุ่มที่ 1 : สูตรควบคุม (control)

กลุ่มที่ 2 : กากมันสำปะหลังหมัก 4%

กลุ่มที่ 3 : กากมันสำปะหลังหมัก 8%

กลุ่มที่ 4 : กากมันสำปะหลังหมัก 12%

กลุ่มที่ 5 : กากมันสำปะหลังหมัก 16%

กลุ่มที่ 6 : กากมันสำปะหลังหมัก 20%

อาหารทดลองทุกสูตรคำนวณให้มีระดับโภชนะที่เพียงพอกับความต้องการของไก่เนื้อในแต่ละช่วงอายุตามคำแนะนำของ NRC (1994) ซึ่งส่วนผสมและองค์ประกอบของโภชนะในอาหารไก่เนื้อได้ไว้ตารางที่ 3.3

3.3.4 ลักษณะที่ต้องการศึกษา

1. สมรรถนะการเจริญเติบโต (growth performance)

ทำการบันทึกน้ำหนักตัวไก่ และปริมาณอาหารที่กินทุกสัปดาห์ ส่วนอัตราการตายบันทึกทุกครั้งที่มีไก่ตาย แล้วนำค่าต่างๆ ที่ได้มาใช้คำนวณ

1) น้ำหนักต่อตัว (body weight, BW)

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

2) ปริมาณอาหารที่กินต่อตัว (feed intake, FI)

$$= \frac{\text{ปริมาณอาหารที่ให้} - \text{ปริมาณอาหารที่เหลือ}}{\text{จำนวนไก่ทั้งหมด}}$$

3) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (feed conversion ratio, FCR)

$$= \frac{\text{ปริมาณอาหารที่กิน}}{\text{น้ำหนักตัวที่เพิ่ม}}$$

2. คุณภาพซาก (carcass quality)

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (วันที่ 42) สุ่มไก่ 2 ตัว/ซ้ำ อดอาหารเป็นเวลา 12 ชั่วโมง โดยสุ่มให้มีน้ำหนักตัวใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ยของไก่ทั้งหมด และฆ่าโดยวิธีเชือดที่เส้นเลือดใหญ่บริเวณคอ (jugular vein) จากนั้นนำซากไก่ไปถอนขนด้วยเครื่องถอนขนแบบอัตโนมัติ แล้วนำมาถอนขนอ่อนด้วยมืออีกครั้ง จากนั้นทำการเปิดซากเอาเครื่องในออก บันทึกน้ำหนักของเครื่องในได้แก่ หัวใจ ตับ น้ำดี ม้าม กระเพาะ กึ๋น ไขมันเกาะอวัยวะ ไขมันในช่องท้อง ลำไส้ส่วนดูโอดีนัม ลำไส้ส่วนเจจูนัม ลำไส้ส่วนไอเลียม และบันทึกความยาวของลำไส้ส่วนดูโอดีนัม ลำไส้ส่วนเจจูนัม

และลำไส้ส่วนไอเลียม นำซากไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อรอการประเมินค่าสีของเนื้อและหนัง และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ซาก (% eviscerated yield) จากสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ซาก (\% eviscerated yield)} = \frac{\text{(น้ำหนักซาก ไม่รวมเครื่องใน คอ และแข้ง)}}{\text{น้ำหนักมีชีวิต}} \times 100$$

3. การประเมินค่าสีของเนื้อและหนัง

นำซากที่ผ่านการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการวัดสีเนื้อส่วนอก สะโพก หนังอก และหนังสะโพก ด้วยเครื่องวัดสี CR-300 MINOLTA (Minolta Camera Co.,Ltd., Osaka, Japan) แล้วรายงานผลเป็นค่าสี (color profile) ออกเป็นค่า L* (lightness) ค่า a* (redness) ค่า b* (yellowness) ก่อนทำการวัดต้องหุ้มเนื้อ และหนังด้วยพลาสติกใส (film wrap) โดยไม่ให้เกิดรอยย่นของพลาสติก และทำการ calibrate เครื่องวัดสีกับแผ่นเทียบสีก่อนทำการวัดครั้งแรก ตำแหน่งที่ทำการวัดสีเป็นตำแหน่งเดิมทุกครั้ง ทำการวัด 3 ตำแหน่งต่อเนื้อหรือหนังหนึ่งชิ้น

4. การศึกษาค่าทางชีวเคมีของโลหิตในไก่เนื้อ

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (วันที่ 42) ทำการสุ่มไก่ทุกกลุ่มการทดลอง เพื่อเจาะเลือดโดยใช้เข็มฉีดยาเบอร์ 23 เจาะที่เส้นเลือดบริเวณปีก เก็บเลือดในหลอดเก็บตัวอย่างที่ไม่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด โดยเก็บตัวอย่างเลือดในกระติกน้ำแข็ง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 rpm เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนซีรัมเพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าทางชีวเคมี โดยใช้เครื่องตรวจวัดอัตโนมัติ Reflotron system รุ่น Reflotron IV (Roch Diagnostics Corporation, Indianapolis., Germany) โดยนำซีรัมปริมาตร 32 ไมโครลิตร หยดลงบน Reflotron tests kits (Roch Diagnostics Corporation, Indianapolis., Germany) แล้วนำเข้าเครื่อง Reflotron system เพื่อทำการตรวจวัดระดับค่าทางชีวเคมีของโลหิตดังนี้

1. เอนไซม์ alanine aminotransferase (ALT) หรือ glutamate pyruvate transminase (GPT) เป็นเอนไซม์ที่มีในเนื้อเยื่อต่างๆของร่างกาย แต่พบมากในตับและไต หากสัตว์เกิดอาการอักเสบหรือมีความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับจะทำให้เอนไซม์ GPT มีค่าสูง

2. เอนไซม์ aspartate aminotransferase (AST) หรือ glutamine oxaloacetate transminase (GOT) เป็นเอนไซม์ที่พบมากในเซลล์ตับและเซลล์กล้ามเนื้อ ในสภาพที่เนื้อเยื่อถูกทำลายระดับของเอนไซม์ GOT จะสูงกว่าค่าปกติ

3.3.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติ ตามแผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์เพื่อเปรียบเทียบค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มโดยวิธี DUNCAN และวิเคราะห์หาแนวโน้มของการใช้กากมันสำปะหลังหมักที่ระดับต่างๆ ด้วยวิธี Orthogonal polynomials contrast โดยใช้โปรแกรมสถิติสำเร็จรูป SAS (1996)

3.4. การทดลองที่ 4 ศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังร่วมกับการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสในอาหาร ต่อการย่อยได้และใช้ประโยชน์ ได้ของโภชนะในไก่เนื้อ

เพื่อศึกษาหาระดับที่เหมาะสม ของการใช้กากมันสำปะหลัง ร่วมกับการเสริมเอนไซม์ไซลาเนส ในอาหารต่อการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในไก่เนื้อ

3.4.1 การเตรียมกากมันสำปะหลัง

นำกากมันสำปะหลังมาทำให้แห้ง หลังจากนั้นนำไปบดให้มีขนาดเล็กประมาณ 1.0 มิลลิเมตร และนำกากมันสำปะหลังแห้งที่ได้ มาวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีก่อนนำไปใช้ประกอบสูตรอาหารทดลอง

3.4.2 สัตว์ทดลอง

ใช้ไก่เนื้อเพศผู้พันธุ์อาร์เบอร์ เอเคอร์ (Arbor Acres) อายุ 1 วัน น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 45 กรัม เลี้ยงจนถึงอายุ 19 วัน จึงสุ่มไก่จำนวน 49 ตัว ขึ้นกรงทดลอง และทำการเลี้ยงบนกรงจนถึงอายุ 22 วัน เพื่อไก่จะได้ปรับตัวให้ชินกับสภาพแวดล้อม เมื่อไก่อายุ 22 วัน ทำการแบ่งไก่ออกเป็น 7 กลุ่มๆ ละ 7 ซ้ำ มีระยะเวลาทดลอง 10 วัน ใช้แผนการทดลองแบบ CRD โดยให้อาหารและน้ำแบบเต็มที่

ตารางที่ 3.3 ส่วนประกอบของสูตรอาหารไก่เนื้อ (การทดลองที่ 3)

	Fermented cassava pulp											
	Starter (0 to 21 d)						Finisher (22 to 42 d)					
Item	Control	4%	8%	12%	16%	20%	Control	4%	8%	12%	16%	20%
Ingredient (%)												
Corn	54.50	50.50	46.50	42.50	38.50	34.50	63.50	59.50	55.50	51.50	47.50	43.50
Soybean meal	20.61	20.28	19.94	19.60	19.25	18.90	15.65	15.33	14.97	14.61	14.22	13.80
Fish meal	8.50	8.50	8.50	8.50	8.50	8.50	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Full-fat soybean	10.50	10.50	10.50	10.50	10.50	10.50	10.50	10.50	10.50	10.50	10.50	10.50
FCP[1]	0.00	4.00	8.00	12.00	16.00	20.00	0.00	4.00	8.00	12.00	16.00	20.00
Soybean oil	1.91	2.46	3.01	3.57	4.12	4.66	1.18	1.74	2.31	2.87	3.43	3.97
Cassava starch	1.25	1.02	0.79	0.56	0.34	0.13	1.25	0.98	0.73	0.51	0.29	0.13
Salt	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.22	0.22	0.22	0.22	0.23	0.23
DL-Met	0.23	0.24	0.26	0.27	0.29	0.31	0.15	0.16	0.18	0.19	0.21	0.23
L-Lys	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.07	0.09	0.10	0.12	0.14
$CaCO_3$	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Dicalcium P	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Premix[2]	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Calculated composition (%)												
ME, kcal/kg	3104	3104	3104	3104	3104	3104	3104	3104	3104	3104	3104	3104
Met + Cys	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7
Lys	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Ca	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0.9	0.9	0.9	0.9
Available P	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Analyzed composition (%)												
DM	88.09	88.36	88.50	88.36	89.11	89.20	88.37	87.23	88.64	87.95	88.34	88.55
CP	23.33	23.03	23.39	23.95	23.82	23.63	20.28	20.60	20.39	20.18	20.05	20.73
CF	3.68	4.41	4.60	4.82	5.37	5.60	4.46	4.75	4.82	4.93	5.21	6.20

[1]FCP = Fermented cassava pulp.

[2] Premix (0.5%) provided the following per kilogram of diet: vitamin A, 15,000 IU; vitamin D3, 3,000 IU; vitamin E, 25 IU; vitamin K3, 5 mg; vitamin B1, 2 mg; vitamin B2, 7 mg; vitamin B6, 4 mg; vitamin B12, 25 µg; 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.

3.4.3 อาหารทดลอง

เป็นการทดสอบการใช้กากมันสำปะหลังร่วมกับการเสริมเอนไซม์ในอาหารไก่เนื้อ โดยใช้กากมันสำปะหลังที่ระดับต่างๆ คือ 8, 12 และ 16% ร่วมกับเอนไซม์ไซลาเนสทางการค้า (Porzyme® 93010, Danisco Animal Nutrition) ที่ผลิตจากการหมักของเชื้อ *Trichoderma longibranchiatum* ซึ่งมีการทำงานของเอนไซม์ไซลาเนส (xylanase activity) 40,000 U/g โดยระดับเอนไซม์ที่ศึกษามี 2 ระดับ คือ 0.1 และ 0.2% อาหารทั้งหมดคำนวณให้มีระดับของโปรตีนและพลังงานเท่ากัน ตามคำแนะนำของ NRC (1994) อาหารทดลองที่ใช้แบ่งออกเป็น 7 กลุ่ม ประกอบด้วย

กลุ่มที่ 1: สูตรควบคุม (control)
กลุ่มที่ 2: เสริมกากมันสำปะหลัง 8% + เอนไซม์ไซลาเสน 0.1%
กลุ่มที่ 3: เสริมกากมันปะหลัง 12% + เอนไซม์ไซลาเนส 0.1%
กลุ่มที่ 4: เสริมกากมันสำปะหลัง 16% + เอนไซม์ไซลาเนส 0.1%
กลุ่มที่ 5: เสริมกากมันปะหลัง 8% + เอนไซม์ไซลาเนส 0.2%
กลุ่มที่ 6: เสริมกากมันสำปะหลัง 12% + เอนไซม์ไซลาเนส 0.2%
กลุ่มที่ 7: เสริมกากมันสำปะหลัง 16% + เอนไซม์ไซลาเนส 0.2%

3.4.4 การเก็บข้อมูล และการวิเคราะห์ทางเคมี

การเก็บข้อมูลต่างๆ และการวิเคราะห์ทางเคมีคล้ายคลึงกับการทดลองที่ 2

3.4.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติ ด้วยแผนการทดลองสุ่มสมบูรณ์ที่จัดทรีทเมนต์แบบแฟคทอเรียลร่วมกับกลุ่มควบคุม (Augmented Factorial Experiments in CRD) แบบ (2x3)+1 และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยวิธี DUNCAN โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป (SAS, 1996)

ตารางที่ 3.4 ส่วนประกอบของสูตรอาหารไก่เนื้อ (การทดลองที่ 4)

		0.1% Xylanase			0.2% Xylanase		
Item	Control	8% DCP[1]	12% DCP	16% DCP	8% DCP	12% DCP	16% DCP
Ingredient (%)							
Corn	55.00	47.00	43.00	39.00	47.00	43.00	39.00
Soybean meal	20.71	23.01	24.18	25.29	23.30	24.22	25.04
Rice bran	7.52	3.75	1.81	0.01	2.76	1.63	0.86
Fish meal	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Full-fat soybean	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
DCP	0.00	8.00	12.00	16.00	8.00	12.00	16.00
Soybean oil	3.61	5.19	5.93	6.68	5.15	5.99	6.88
Cassava starch	1.55	1.34	1.37	1.31	1.98	1.35	0.41
Salt	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
DL-Met	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26
$CaCO_3$	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60
Dicalcium P	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Xylanase	0.00	0.10	0.10	0.10	0.20	0.20	0.20
Premix[1]	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Calculated composition (%)							
ME, kcal/kg	3199	3199	3199	3199	3199	3199	3199
Met + Cys	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9
Lys	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1
Ca	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
Available P	0.6	0.6	0.6	0.5	0.6	0.6	0.5
Analyzed composition (%)							
DM	89.26	89.42	89.02	89.08	89.47	89.12	89.41
CP	18.23	17.69	16.98	17.20	18.10	16.50	18.75
CF	6.56	7.96	7.10	8.35	8.71	8.42	8.25

[1]DCP = Dried cassava pulp.

[2]Premix (0.5%) provided the following per kilogram of diet: vitamin A, 15,000 IU; vitamin D3, 3,000 IU; vitamin E, 25 IU; vitamin K3, 5 mg; vitamin B1, 2 mg; vitamin B2, 7 mg; vitamin B6, 4 mg; vitamin B12, 25 µg; 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.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.5. การทดลองที่ 5: ศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังร่วมกับการเสริมเอนไซม์ไซลาเนส ในอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตและคุณภาพซากของไก่เนื้อ

เพื่อศึกษาหาผลของการใช้กากมันสำปะหลัง ร่วมกับการเสริมเอนไซม์ในอาหารไก่เนื้อต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตและคุณภาพซาก

3.5.1 การเตรียมกากมันสำปะหลัง

มีวิธีการเตรียมเช่นเดียวกับการทดลองที่ 4

3.5.2 สัตว์ทดลอง

ใช้ไก่เนื้อเพศผู้พันธุ์อาร์เบอร์ เอเคอร์ (Arbor Acres) อายุ 1 วัน น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 51 กรัม จำนวน 320 ตัว ทำการแบ่งไก่ออกเป็น 4 กลุ่มๆ ละ 4 ซ้ำๆ ละ 20 ตัว ใช้แผนงานทดลองแบบ CRD

3.5.3 อาหารทดลอง

อาหารทดลองแบ่งออกเป็น 4 สูตร โดยคำนวณให้มีระดับของโปรตีนและพลังงานเท่ากันตามคำแนะนำของ NRC (1994) มีการให้น้ำและอาหารแบบเต็มที่ อาหารทดลองประกอบด้วย

กลุ่มที่ 1 : สูตรควบคุม (control)

กลุ่มที่ 2 : เสริมกากมันสำปะหลัง 8% + เอนไซม์ไซลาเนส 0.1%

กลุ่มที่ 3 : เสริมกากมันปะหลัง 12% + เอนไซม์ไซลาเนส 0.1%

กลุ่มที่ 4 : เสริมกากมันสำปะหลัง 16% + เอนไซม์ไซลาเนส 0.1%

3.5.4 การเก็บข้อมูล และการวิเคราะห์ทางเคมี

ทำการบันทึกน้ำหนักตัว และปริมาณอาหารที่กินทุกสัปดาห์ ส่วนอัตราการตายบันทึกทุกครั้งที่มีไก่ตาย เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (วันที่ 42) สุ่มไก่ 2 ตัว/ซ้ำ อดอาหารเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ฆ่าโดยวิธีเชือดที่เส้นเลือดใหญ่บริเวณคอ ถอนขนไก่ด้วยเครื่องถอนขนอัตโนมัติ ทำการบันทึกน้ำหนักเครื่องใน ไขมันช่องท้อง น้ำหนักและความยาวของลำไส้เล็ก จากนั้นนำซากไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อรอการประเมินค่าสีของเนื้อและหนัง และตัดแยกซากออกเป็นชิ้นส่วนต่างๆ เพื่อบันทึกส่วนกล้ามเนื้อในส่วนต่างๆ โดยการวัดในทุกพารามิเตอร์มีวิธีการดังเช่นในการทดลองที่ 3

3.5.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติด้วยแผนการทดลองแบบ CRD และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลองโดยวิธี DUNCAN โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (SAS, 1996)

3.6 สถานที่ทำการทดลอง

1. ห้องปฏิบัติการโภชนศาสตร์สัตว์อาคารเครื่องมือ 3 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2. งานสัตว์ปีก ฟาร์มมหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.7 ระยะเวลาทำการทดลอง

การทดลองที่ 1 ตั้งแต่ช่วงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2552 ถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2552
การทดลองที่ 2 ตั้งแต่วันที่ 2 มิถุนายน พ.ศ. 2552 ถึงวันที่ 27 มิถุนายน พ.ศ. 2552
การทดลองที่ 3 ตั้งแต่วันที่ 21 มกราคม พ.ศ. 2553 ถึงวันที่ 4 มีนาคม พ.ศ. 2553
การทดลองที่ 4 ตั้งแต่วันที่ 15 ธันวาคม พ.ศ. 2553 ถึงวันที่17 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2554
การทดลองที่ 5 ตั้งแต่วันที่ 20 มีนาคม พ.ศ. 2554 ถึงวันที่ 1 พฤษภาคม พ.ศ. 2554
การทดลองที่ 6 ตั้งแต่วันที่ 24 ตุลาคม พ.ศ. 2554 ถึงวันที่ 8 ธันวาคม พ.ศ. 2554

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 3.5 ส่วนประกอบของสูตรอาหารไก่เนื้อ (การทดลองที่ 5)

	0.1% Xylanase supplementation							
	Starter (0 to 21 d)				Finisher (22 to 42 d)			
Item	Control	8% DCP[1]	12% DCP	16% DCP	Control	8% DCP	12% DCP	16% DCP
Ingredient (%)								
Corn	52.00	44.00	40.00	36.00	55.00	47.00	43.00	39.00
Soybean meal	24.08	25.69	26.9	27.79	21.25	23.17	24.05	24.99
Rice bran	6.70	3.56	1.59	0	6.71	3.20	1.65	0
Fish meal	9.00	9.00	9.00	9.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Full-fat soybean	3.00	3.00	3.00	3.00	8.00	8.00	8.00	8.00
DCP	0	8.00	12.00	16.00	0	8.00	12.00	16.00
Soybean oil	2.87	4.31	5.07	5.77	2.23	3.72	4.41	5.13
Salt	0.30	0.30	0.30	0.30	0.26	0.26	0.26	0.27
DL-Met	0.27	0.27	0.27	0.27	0.18	0.18	0.18	0.18
L-Lys	0	0	0	0	0.08	0.08	0.07	0.06
$CaCO_3$	1.01	0.95	0.92	0.90	1.27	1.21	1.20	1.16
Dicalcium P	0.27	0.32	0.35	0.37	0.52	0.58	0.58	0.61
Xylanase	0	0.10	0.10	0.10	0	0.10	0.10	0.10
Premix[2]	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Calculated composition (%)								
ME, kcal/kg	3109	3109	3109	3109	3101	3101	3101	3101
Met + Cys	0.9	0.9	0.9	0.9	0.7	0.7	0.7	0.7
Lys	1.1	1.1	1.1	1.1	1.0	1.0	1.0	1.0
Ca	1.0	1.0	1.0	1.0	0.9	0.9	0.9	0.9
Available P	0.5	0.5	0.5	0.5	0.4	0.4	0.4	0.4
Analyzed composition (%)								
DM	89.95	90.45	91.12	92.32	92.10	91.45	92.56	90.72
CP	21.60	21.33	21.53	21.16	19.61	19.71	19.15	20.17
CF	4.23	5.29	5.71	6.40	4.52	6.01	5.65	5.64

[1]DCP = Dried cassava pulp.

[2]Premix (0.5%) provided the following per kilogram of diet: vitamin A, 15,000 IU; vitamin D3, 3,000 IU; vitamin E, 25 IU; vitamin K3, 5 mg; vitamin B1, 2 mg; vitamin B2, 7 mg; vitamin B6, 4 mg; vitamin B12, 25 µg; 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.

บทที่ 4
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

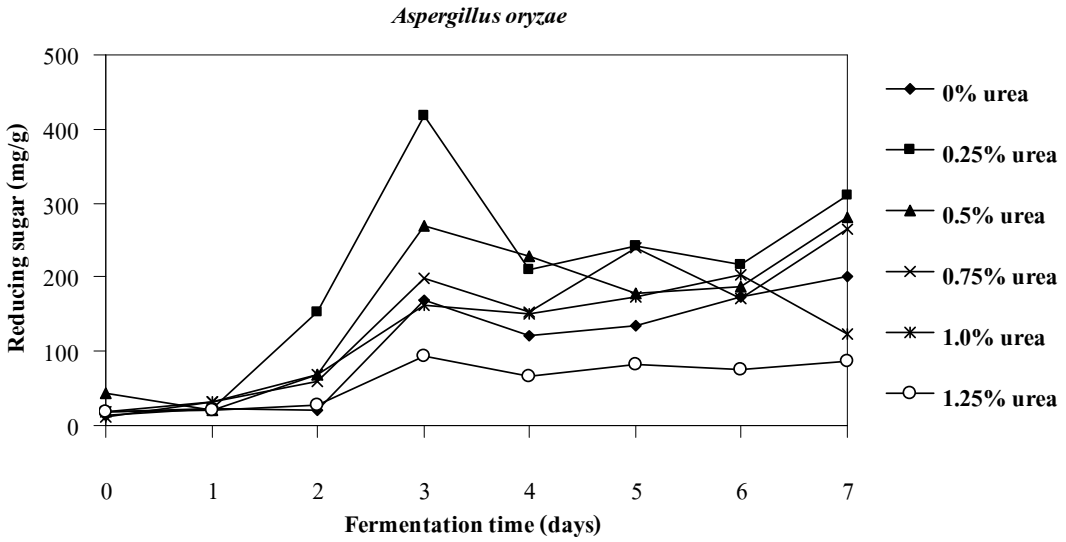
4.1 การทดลองที่ 1: ผลการศึกษาหาวิธีการเพิ่มคุณค่าทางโภชนะของกากมันสำปะหลังโดยวิธีการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์

จากการศึกษาผลของการหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อจุลินทรีย์ 3 ชนิด คือ เชื้อ *A. oryzae, S. cerevisiae* และ *C. utilis* ร่วมกับการใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน 6 ระดับ คือ 0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.25% โดยทำการเก็บตัวอย่างทุกวันเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นทำการวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โปรตีน และอะมิโนไนโตรเจน

4.1.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

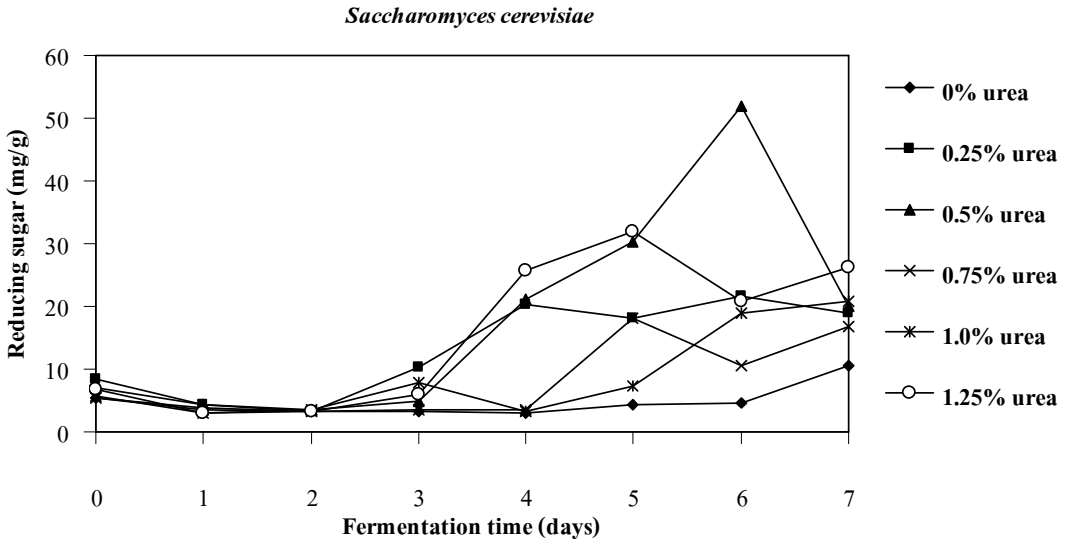
การวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เป็นการหาปริมาณน้ำตาลที่เกิดจากเอนไซม์ที่ผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์เพื่อย่อยแป้งให้ได้เป็นน้ำตาล จากผลการทดลอง เมื่อนำไปวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่ามีปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อจุลินทรีย์ ระดับยูเรีย และระยะเวลาในการหมักเกิดขึ้น โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากกระบวนการหมักมีมากกว่า 1 สภาวะที่ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) จึงได้นำค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นจากการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดมาแสดงดังภาพที่ 4.1, 4.2 และ 4.3 พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดที่เกิดขึ้น คือ 418 มิลลิกรัมต่อกรัม เมื่อหมักด้วยเชื้อ *A. oryzae* ที่ระดับการใช้ยูเรีย 0.25% หลังการหมักเป็นเวลา 3 วัน จากนั้นปริมาณน้ำตาลจะลดลงเรื่อยๆ ดังแสดงในภาพที่ 4.1 ในขณะที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นจากการหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* และ *C. utilis* มีค่าสูงสุดเพียง 51.92 และ 73.59 มิลลิกรัมต่อกรัม ที่ระดับการใช้ ยูเรีย 0.5 และ 0.25% ตามลำดับ หลังการหมักเป็นเวลา 6 วัน แสดงในภาพที่ 4.2 และ 4.3 ทั้งนี้อาจเป็นผลจากเชื้อ *A. oryzae* มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ได้หลายชนิด ได้แก่ เอนไซม์โปรติเอส (protease) แอลฟาอะไมเลส (α-amylase) กลูโคอะไมเลส (glucoamylase) และเซลลูเลส (cellulase) (เพ็ญจิตร และคณะ, 2546; Begum et al., 2009; Francis et al., 2002; Zambare, 2010) โดยเอนไซม์ที่ผลิตได้ จะสามารถย่อยเยื่อใยที่มีอยู่ในกากมันสำปะหลังได้ (Ronald, 2004) ซึ่งผลการทดลอง สอดคล้องกับการศึกษาการหมักแบบแข็ง (solid state fermentation) ด้วยเชื้อ *A. oryzae* ต่อการผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลส พบว่าการหมักรำข้าวสาลีร่วมกับการใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนระดับ 0.25% สามารถผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลสได้สูงสุด (Zambare, 2010) และการศึกษาการหมักแบบแข็งด้วยเชื้อ *A. oryzae* ต่อการผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส พบว่าการหมักรำข้าวสาลี สามารถผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้สูงสุดหลังการหมัก

เป็นเวลา 3 วัน (Sivaramakrishan et al., 2007) ส่วนการหมักกากเบียร์สามารถผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้สูงสุดหลังการหมักเป็นเวลา 4 วัน (Francis et al., 2002)

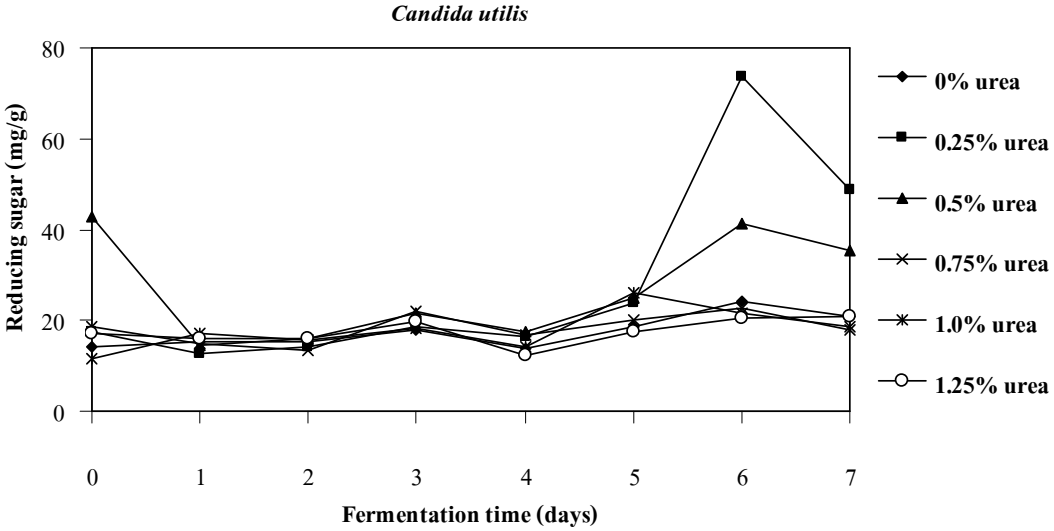


ภาพที่ 4.1 แสดงการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัม/กรัม) ในการหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. oryzae* เมื่อใช้ยูเรียที่ระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.25% หมักเป็นเวลา 7 วัน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 4.2 แสดงการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัม/กรัม) ในการหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* เมื่อใช้ยูเรียที่ระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.25% หมักเป็นเวลา 7 วัน

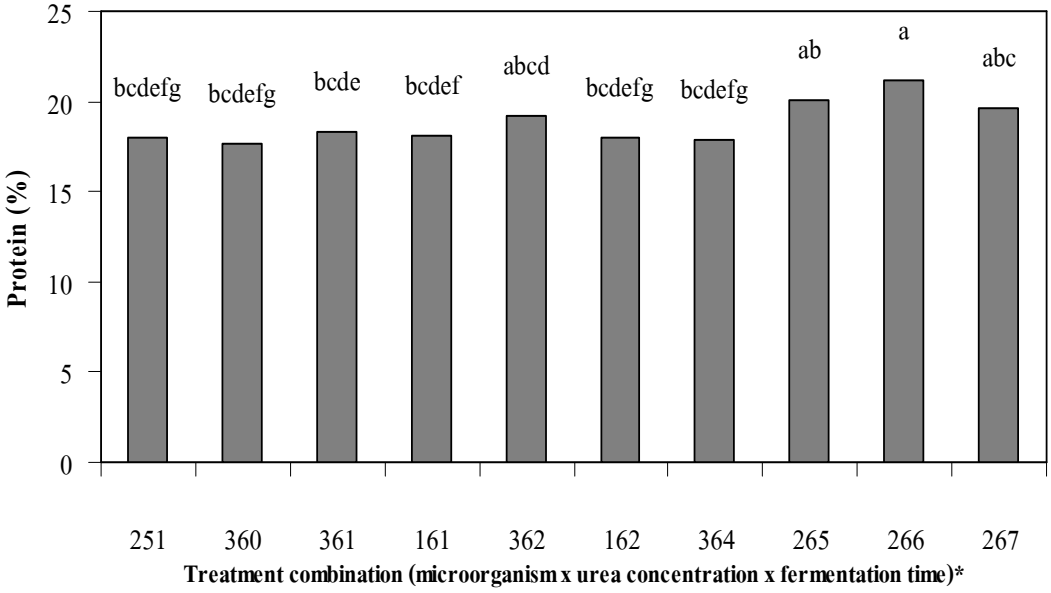


ภาพที่ 4.3 แสดงการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัม/กรัม) ในการหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *C. utilis* เมื่อใช้ยูเรียที่ระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.25% หมักเป็นเวลา 7 วัน

4.1.2. ปริมาณโปรตีน

จากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน พบว่ากากมันสำปะหลังที่ได้รับการหมักด้วยเชื้อ *A. oryzae*, *S. cerevisiae* และ *C. utilis* เมื่อใช้ยูเรียที่ระดับแตกต่างกัน 0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.25% เป็นระยะเวลา 7 วัน ให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดที่เกิดขึ้นคือ 21.21% เมื่อหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* ที่ระดับการใช้ยูเรีย 1.25% หลังการหมักเป็นเวลา 6 วัน ซึ่งมีค่าสูงกว่าการหมักด้วยเชื้อ *A. oryzae* ที่มีระดับโปรตีนที่เกิดขึ้นสูงสุดคือ 18.11% ที่ระดับการใช้ยูเรีย 1.25% หลังการหมักเป็นเวลา 1 วัน และการหมักด้วยเชื้อ *C. utilis* ที่มีระดับโปรตีนที่เกิดขึ้นสูงสุดคือ 19.18% ที่ระดับการใช้ยูเรีย 1.25% หลังการหมักเป็นเวลา 2 วัน เมื่อนำไปวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่ามีปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างเชื้อจุลินทรีย์ ระดับยูเรีย และระยะเวลาในการหมักเกิดขึ้นโดยมีมากกว่า 1 สภาวะที่ให้ผลไม่แตกต่างกัน จึงได้นำค่าต่างๆ ที่เกิดขึ้น 10 อันดับค่าแรกมาแสดง ดังภาพที่ 4.4 แต่อย่างไรก็ตามปริมาณโปรตีนที่เพิ่มขึ้นอาจมาจากปริมาณของยูเรียที่ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจน ซึ่งไก่เนื้อไม่สามารถนำยูเรียไปใช้ประโยชน์ในร่างกายได้ จึงมีการทดสอบยูเรียด้วยวิธีการทดสอบเบื้องต้น พบว่าไม่มียูเรียตกค้างในกากมันสำปะหลังหมัก นอกจากนี้ควรคำนึงถึงปริมาณยูเรียที่เชื้อจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเซลล์ได้จริง จึงจำเป็นต้องพิจารณาค่าอะมิโนไนโตรเจนซึ่งเป็นตัวที่แสดงถึงการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ดีกว่าค่าโปรตีน (Read and Gregory, 1975)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



*Microorganism: 1 = *A. oryzae*, 2 = *S. cerevisiae*, 3 = *C. utilis*

Urea concentration: 1 = 0%; 2 = 0.25%; 3 = 0.5%; 4 = 0.75%; 5 = 1.0%; 6 = 1.25%

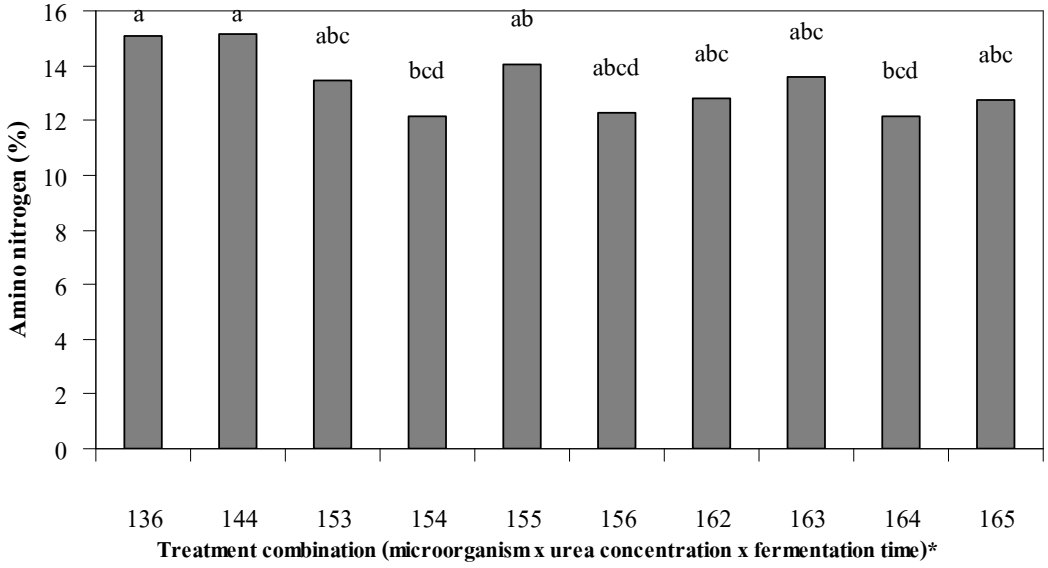
Fermentation time: 0 = day0; 1 = day1; 2 = day2; 3 = day3; 4 = day4; 5 = day5; 6 = day6; 7 = day7

ภาพที่ 4.4 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีน (%) ในการหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. oryzae, S. cerevisiae* และ *C. utilis* เมื่อใช้ยูเรียที่ระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.25% หมักเป็นเวลา 7 วัน

4.1.3. ปริมาณอะมิโนไนโตรเจน

จากการทดลองพบว่าค่าอะมิโนไนโตรเจนสูงสุดที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักมีมากกว่า 1 สภาวะคือ 15.13% และ 15.10% เมื่อหมักด้วยเชื้อ *A. oryzae* ที่ระดับการใช้ยูเรีย 0.75% และ 0.5% หลังการหมักเป็นเวลา 4 และ 6 วันตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่าการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* ที่มีระดับอะมิโนไนโตรเจนที่เกิดขึ้นสูงสุด คือ 7.58% ที่ระดับการใช้ยูเรีย 0.5% หลังการหมักเป็นเวลา 6 วัน และการหมักด้วยเชื้อ *C. utilis* ที่มีระดับอะมิโนไนโตรเจนที่เกิดขึ้นสูงสุดคือ 9.20% ที่ระดับการใช้ยูเรีย 1.25% หลังการหมักเป็นเวลา 5 วัน อาจเป็นผลมาจากความสามารถของเชื้อ *A. oryzae* ในการหลั่งเอนไซม์เพื่อย่อยเซลลูโลสในกากมันสำปะหลังได้ดีกว่าเชื้อ *S. cerevisiae* และ *C. utilis* (Oboh et al., 2002)

เมื่อนำไปวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่ามีปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างเชื้อจุลินทรีย์ ระดับยูเรีย และระยะเวลาในการหมักเกิดขึ้น จึงได้นำค่าต่างๆ ที่เกิดขึ้น 10 อันดับค่าแรกมาแสดง ดังภาพที่ 4.5



*Microorganism: 1 = *A. oryzae*, 2 = *S. cerevisiae*, 3 = *C. utilis*

Urea concentration: 1 = 0%; 2 = 0.25%; 3 = 0.5%; 4 = 0.75%; 5 = 1.0%; 6 = 1.25%

Fermentation time: 0 = day0; 1 = day1; 2 = day2; 3 = day3; 4 = day4; 5 = day5; 6 = day6; 7 = day7

ภาพที่ 4.5 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณอะมิโนไนโตรเจน (%) ในการหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. oryzae, S. cerevisiae* และ *C. utilis* เมื่อใช้ยูเรียที่ระดับ 0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.25% หมักเป็นเวลา 7 วัน

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนในกากมันสำปะหลังหมัก ซึ่งเป็นการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด โดยปริมาณไนโตรเจนที่วิเคราะห์ได้นั้นเป็นได้ทั้งสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นปริมาณโปรตีนแท้ และปริมาณโปรตีนไม่แท้จริง เช่น ยูเรีย ซึ่งในการทดลองหมักกากมันสำปะหลังครั้งนี้ มีการใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนให้กับเชื้อจุลินทรีย์ โดยยูเรียมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบถึง 46% และเมื่อคิดเป็นโปรตีนจะได้เท่ากับ 287.5% ดังนั้นการนำกากมันสำปะหลังหมักไปใช้ในอาหารไก่เนื้อจึงควรมีการวิเคราะห์ปริมาณยูเรียที่อาจเหลือตกค้างในกากมันสำปะหลังหมัก แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาจากปัจจัยอื่นร่วมด้วย เช่น ต้นทุนต่ำสุด ระยะเวลาการหมักที่เหมาะสม และปริมาณอะมิโนไนโตรเจนซึ่งเป็นตัวที่แสดงถึงการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเชื้อ *A. oryzae* เป็นเชื้อที่เหมาะสมที่สุดในการหมักกากมันสำปะหลังโดยใช้ยูเรียที่ระดับ 0.75% หมักเป็นเวลา 4 วัน ซึ่งที่สภาวะดังกล่าวสามารถเพิ่มการผลิตโปรตีนและอะมิโนไนโตรเจนในกากมันสำปะหลังจาก 2.59 และ 0.90% เป็น 17.40 และ 15.13% ตามลำดับ

การขยายขนาดการหมักกากมันสำปะหลัง

เมื่อทราบสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักแล้ว จึงทำการขยายขนาดการหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. oryzae* โดยใช้ยูเรียที่ระดับ 0.75% หลังการหมักเป็นเวลา 4 วัน เพื่อใช้ในการประกอบสูตรอาหารไก่เนื้อ ซึ่งเป็นการหมักแบบไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ โดยใช้หัวเชื้อ *A. oryzae* ในรูปลูกแป้ง (koji) ที่มีความเข้มข้นของเชื้อจุลินทรีย์เท่ากับ 1.56 x 10^5 CFU/กรัม โดยหลังการหมักพบว่าสามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนในกากมันสำปะหลังได้เพียง 11.82% และมีปริมาณยูเรียตกค้างอยู่ในกากมันสำปะหลัง 1.31% ซึ่งอาจเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตบนกากมันสำปะหลังได้ไม่ทั่วถึงในถังหมักขนาดใหญ่ ดังนั้นหากมีการออกแบบถังหมักที่มีใบกวนเพื่อให้กากมันสำปะหลังผสมกับเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างทั่วถึงน่าจะทำให้ได้ปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้น

เมื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบทางโภชนะของกากมันสำปะหลังหมักกับกากมันสำปะหลังปกติจากงานทดลองของยุวเรศ และคณะ (2550) และ Khempaka et al. (2009) ดังตารางที่ 4.1 พบว่ากากมันสำปะหลังหมักมีปริมาณแป้งและเยื่อใยลดลง ทั้งนี้อาจเกิดจากเชื้อ *A. oryzae* มีการหลั่งเอนไซม์เพื่อย่อยเยื่อใยและแป้งในกากมันสำปะหลัง (Oboh et al., 2002) จากนั้นจุลินทรีย์จะใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการสร้างพลังงานและเพิ่มจำนวนเซลล์ รวมถึงจุลินทรีย์เป็นแหล่งที่มีโปรตีนสูงเมื่อมีการเพิ่มจำนวนจึงทำให้กากมันสำปะหลังหมักมีปริมาณโปรตีนสูงขึ้น ส่วนการลดลงของเถ้าในการหมักกากมันสำปะหลัง อาจเกิดจากความแตกต่างของปริมาณสารอนินทรีย์ซึ่งได้แก่ แร่ธาตุที่มีอยู่ในกากมันสำปะหลังที่ใช้ในการหมัก โดยความแตกต่างนี้จะขึ้นอยู่กับปริมาณแร่ธาตุที่มีอยู่ในดินที่ปลูกมันสำปะหลังในแต่ละพื้นที่ และอายุของการเก็บเกี่ยวมันสำปะหลัง นอกจากนี้ความแปรปรวนของปริมาณไขมันที่เกิดขึ้น อาจเนื่องมาจากลักษณะของสายพันธุ์ อายุการเก็บเกี่ยว คุณภาพของหัวมันสำปะหลังสด และกรรมวิธีในการสกัดแป้งของแต่ละโรงงาน (Sriroth et al., 1999)

จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน ซึ่งแสดงถึงคุณภาพโปรตีนของกากมันสำปะหลังหมัก ดังแสดงในตารางที่ 4.1 พบว่าการหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อจุลินทรีย์สามารถเพิ่มกรดอะมิโนที่จำเป็นได้แก่ ฮิสติดีน อาร์จินีน ทรีโอนีน และวาลีนได้มากกว่ากากมันสำปะหลังปกติที่ได้จากการทดลองของยุวเรศ และคณะ (2550) และ Khempaka et al. (2009) ส่วนปริมาณกรดอะมิโนที่พบว่ามีอยู่ในกากมันสำปะหลังหมักสูงสุด 3 ลำดับแรก คือ กลูตามิก แอสปาติก และอะลานีน โดยมีปริมาณกรดอะมิโน 0.250, 0.143 และ 0.137 กรัม/ 100 กรัม เมื่อพิจารณาองค์ประกอบทางโภชนะเบื้องต้นชี้ให้เห็นว่า กากมันสำปะหลังหมักมีคุณค่าทางอาหารในระดับที่เหมาะสมในการนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์ได้

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางโภชนะของกากมันสำปะหลังหมัก (% as-fed basis)

Component	Fermented cassava pulp	Cassava pulp (Khempaka et al., 2009)	Cassava pulp (ยุวเรศ และคณะ, 2550)
Dry matter	94.39	93.22	88.66
Crude protein	11.82	1.98	2.69
Ether extract	0.15	0.13	0.39
Crude fiber	10.60	13.59	14.75
Ash	1.58	2.83	4.5
Calcium	0.07	0.10	0.57
Total phosphorus	0.03	0.05	0.02
Starch	35.54	53.55	47.96
ME, kcal/kg	-	-	2,363
TME, kcal/kg	2,049	2,484	-
Amino acid (g/100 g)			
Aspartic acid	0.143	0.131	0.8
Serine	0.101	0.092	0.03
Glutamic acid	0.250	-	0.12
Glycine	0.086	0.078	0.04
Histidine	0.040	0.013	0.03
Arginine	0.136	0.062	<0.005
Threonine	0.107	0.076	0.02
Alanine	0.137	0.139	0.09
Proline	0.092	0.096	0.07
Valine	0.096	0.082	-
Lysine	0.130	0.104	0.26
Isoleucine	0.072	0.065	0.13
Leucine	0.131	0.104	0.20
Phenylalanine	0.078	0.059	0.21
Methionine	-	0.018	<0.005
Glutamine + Glycine	0.162	0.161	-

4.2 การทดลองที่ 2: ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักต่อการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในไก่เนื้อ

ผลการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในไก่เนื้อที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 0, 4, 8, 12, 16, 20 และ 24% ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.2 โดยพบว่ามีการย่อยได้ของสิ่งแห้งลดลงแบบเป็นเส้นตรง (L=0.0014) เฉลี่ยเท่ากับ 69.28, 67.87, 69.80, 67.30, 68.29, 63.88 และ 65.71% ตามลำดับ มีการย่อยได้ของสารอินทรีย์ลดลงแบบเป็นเส้นตรง (L=0.0027) เฉลี่ยเท่ากับ 72.28, 71.16, 73.07, 70.02, 71.18, 67.42 และ 68.81% ตามลำดับ และมีการใช้ประโยชน์ของไนโตรเจนลดลงแบบเป็นเส้นตรง (L=0.0005) เฉลี่ยเท่ากับ 44.58, 41.31, 46.3, 41.93, 45.18, 30.20 และ 33.93% ตามลำดับ โดยไก่เนื้อที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 20 และ 24% มีการย่อยได้ของสิ่งแห้ง สารอินทรีย์ และการใช้ประโยชน์ของไนโตรเจนต่ำกว่าไก่เนื้อในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากกากมันสำปะหลังหมักมีปริมาณเยื่อใยสูง (10.60%) ดังนั้นปริมาณเยื่อใยที่เพิ่มขึ้นตามระดับการเพิ่มของกากมันสำปะหลังหมักในสูตรอาหารไก่เนื้อ อาจมีผลต่อการลดการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ โดยสูตรอาหารที่มีกากมันสำปะหลังหมักระดับ 20 และ 24% จะมีเยื่อใยเป็นองค์ประกอบ 5.37 และ 5.60% ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของทวีศักดิ์ และคณะ (2544) ที่รายงานว่าปริมาณเยื่อใยที่สูงขึ้นตามระดับการเพิ่มของมันสำปะหลังหมักในสูตรอาหารทำให้การย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะต่างๆ ได้มีแนวโน้มลดลง และสอดคล้องกับการรายงานของ Jorgensen et al. (1996) ที่รายงานว่าความสามารถในการย่อยได้ของไก่เนื้อจะลดลงเมื่อระดับเยื่อใยในอาหารเพิ่มขึ้น

จากผลการศึกษาข้างต้น จะเห็นได้ว่ากากมันสำปะหลังหมักสามารถใช้ในสูตรอาหารไก่เนื้อได้ถึงระดับ 16% โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Khempaka et al. (2009) ที่พบว่ากากมันสำปะหลังปกติสามารถใช้ในสูตรอาหารไก่เนื้อได้เพียง 8% ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกากมันสำปะหลังหมักมีปริมาณโปรตีนสูงถึง 11.82% จึงสามารถทดแทนโปรตีนในข้าวโพดได้มากกว่ากากมันสำปะหลังปกติที่มีโปรตีนปริมาณต่ำ อีกทั้งในกระบวนการหมักยังมีการนึ่งกากมันสำปะหลังก่อนทำการหมักเพื่อลดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์และยังมีผลทำให้แป้งสุกด้วย ดังนั้นอาจมีผลทำให้แป้งที่เป็นองค์ประกอบในกากมันสำปะหลังหมักมีการย่อยได้มากกว่าแป้งจากกากมันสำปะหลังปกติ

ตารางที่ 4.2 ผลของกากมันสำปะหลังหมักต่อการย่อยได้ และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในไก่เนื้อ

		Fermented cassava pulp						Pooled	P-value,
	Control	4%	8%	12%	16%	20%	24%	SEM[1]	trend[2]
Digestibility (%)									
DM[5]	69.28[a]	67.87[ab]	69.80[a]	67.30[ab]	68.29[ab]	63.88[c]	65.71[bc]	0.47	L=0.0014[3]
Ash	14.09	9.08	12.01	13.64	16.04	13.60	9.05	0.90	NS[4]
OM[6]	72.28[ab]	71.16[ab]	73.07[a]	70.02[abc]	71.18[ab]	67.42[c]	68.81[bc]	0.47	L=0.0027
N retention (%)									
	44.58[a]	41.31[ab]	46.30[a]	41.93[ab]	45.18[a]	30.20[c]	33.93[bc]	1.23	L=0.0005

[a-c] Means within a row with different superscript are significantly different (P<0.05).

[1]Standard error of the mean (n=7).

[2]Refer to polynomial trend analysis.

[3]Linear trend.

[4]Not significant (P>0.05).

[5]Dry matter.

[6]Organic matter.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4.3 การทดลองที่ 3: ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตและคุณภาพซากของไก่เนื้อ

4.3.1 ผลของกากมันสำปะหลังหมักต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต

ผลของการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่เนื้อที่ระดับ 0, 4, 8, 12, 16 และ 20% ต่อน้ำหนักตัว ปริมาณอาหารที่กิน และประสิทธิภาพการใช้อาหาร แสดงในตารางที่ 4.3 จากการทดลองพบว่าไก่เนื้อมีน้ำหนักตัว ปริมาณการกินอาหาร และประสิทธิภาพการใช้อาหารลดลงตามระดับการเพิ่มขึ้นของกากมันสำปะหลังหมัก โดยการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่เนื้อระดับ 0, 4, 8, 12, 16 และ 20% ที่อายุ 0-21 วัน พบว่าไก่เนื้อมีน้ำหนัก ปริมาณอาหารที่กิน และประสิทธิภาพการใช้อาหาร แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 680, 684, 671, 667, 644 และ 640 กรัม; 1047, 1065, 1082, 1077, 1030 และ 1037 กรัม และ 1.65, 1.66, 1.73, 1.73, 1.72 และ 1.74 ตามลำดับ สำหรับไก่เนื้อที่อายุ 0-42 วัน มีน้ำหนักตัวลดลงเป็นเส้นโค้งแบบ quadratic ($Q=0.027$) เฉลี่ยเท่ากับ 2219, 2240, 2201, 2160, 2116 และ 1996 กรัม ตามลำดับ มีปริมาณอาหารที่กินลดลงเป็นเส้นโค้งแบบ quintic ($Quin=0.0046$) เฉลี่ยเท่ากับ 4151, 4139, 4183, 4112, 4124 และ 4042 กรัม ตามลำดับ และมีประสิทธิภาพการใช้อาหารลดลงแบบเป็นเส้นตรง ($L=0.0005$) เฉลี่ยเท่ากับ 1.91, 1.88, 1.94, 1.94, 1.99 และ 2.07 ตามลำดับ

โดยภาพรวมแล้วสามารถใช้กากมันสำปะหลังหมักได้ถึงระดับ 16% โดยไม่ส่งผลกระทบต่อน้ำหนักตัว ปริมาณอาหารที่กิน และประสิทธิภาพการใช้อาหาร ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับผลทางด้านการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ในการทดลองที่ 2 โดยการหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อจุลินทรีย์สามารถเพิ่มระดับการใช้ในสูตรอาหารไก่เนื้อได้เมื่อเทียบกับกากมันสำปะหลังปกติที่ไม่ได้มีการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะที่สามารถใช้เป็นส่วนประกอบในสูตรอาหารไก่เนื้อได้เพียง 5-10% (ปรีดา และคณะ, 2552; ยุวเรศ และคณะ, 2550; Khempaka et al., 2009) สำหรับสมรรถนะการเจริญเติบโตที่ลดลงในกลุ่มของไก่เนื้อได้รับกากมันสำปะหลังหมักระดับ 20% อาจเกิดจากข้อจำกัดในด้านความจุของกระเพาะอาหาร อีกทั้งกากมันสำปะหลังหมักมีลักษณะฟ่าม เมื่อนำมาผสมในสูตรอาหารในปริมาณสูง ทำให้อาหารมีลักษณะฟ่าม เป็นฝุ่น และไม่น่ากิน แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษาของปรีดา และคณะ (2552) รายงานว่าการอัดเม็ดอาหารสูตรที่มีกากมันสำปะหลังเป็นส่วนประกอบสามารถเพิ่มน้ำหนักตัว และปริมาณอาหารที่กินเมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงไก่เนื้อด้วยอาหารผง เนื่องจากการอัดเม็ดอาหารช่วยลดความเป็นฝุ่น เพิ่มความน่ากิน และป้องกันการแยกตัวของส่วนประกอบอาหารทำให้สัตว์เลือกกินไม่ได้ สัตว์จึงได้รับโภชนะที่สมดุลในอาหารแต่ละเม็ดที่สัตว์กิน (สาโรช, 2547) ดังนั้นการอัดเม็ดอาหารที่มีกากมันสำปะหลังเป็นส่วนประกอบอาจช่วยแก้ไขปัญหาดังกล่าวได้

4.3.2 ผลของกากมันสำปะหลังหมักต่อลักษณะซากของไก่เนื้อ

จากผลการทดลองพบว่าไก่เนื้อที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 0, 4, 8, 12, 16 และ 20% มีเปอร์เซ็นต์ซาก และเปอร์เซ็นต์กล้ามเนื้อส่วนต่างๆ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ดังตารางที่ 4.4 สอดคล้องกับยุวเรศและคณะ (2550) ที่รายงานว่าการใช้กากมันสำปะหลังไม่มีผลกระทบต่อลักษณะซากของไก่เนื้อ อย่างไรก็ตาม Khempaka et al. (2009) รายงานว่าการใช้กากมันสำปะหลังในสูตรอาหารไก่เนื้อ มีผลในการลดไขมันช่องท้อง และเพิ่มน้ำหนักกึ๋น ซึ่งนักวิจัยให้เหตุผลว่า อาจมีสาเหตุมาจากปริมาณเยื่อใยที่สูงในกากมันสำปะหลัง (13.59%) ไปยับยั้งการสังเคราะห์ไขมันในตับ และช่องท้อง รวมทั้งกึ๋นมีการทำงานในการบดเยื่อใยหนักขึ้น ส่งผลให้มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นด้วย แต่การศึกษาครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างดังกล่าว อาจเนื่องมาจากอาหารทุกสูตรได้ทำการปรับสมดุลโภชนะต่างๆ ให้เท่ากัน และเพียงพอต่อความต้องการของไก่ นอกจากนี้เยื่อใยในกากมันสำปะหลังอาจถูกย่อยให้มีสายพันธะที่สั้นลง โดยการทำงานของ *A. oryzae* ระหว่างกระบวนการหมัก ซึ่งอาจมีส่วนช่วยลดการทำงานของกึ๋น โดย Hetland (2005) รายงานว่าเยื่อใยที่มีขนาดใหญ่ จะส่งผลให้กึ๋นมีการทำงานมากขึ้น และท้ายที่สุดทำให้กึ๋นมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.3 ผลของกากมันสำปะหลังหมักต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตในไก่เนื้อ (0-42 วัน)

		Fermentation cassava pulp					Pooled	P-value,
	Control	4%	8%	12%	16%	20%	SEM[1]	trend[2]
BW (g/bird)								
d 0	44	43	44	43	44	44	0.12	NS[3]
d 7	128	132	131	132	126	125	1.34	NS
d 14	301	312	303	309	297	289	3.08	NS
d 21	680	684	671	667	644	640	5.93	NS
d 28	1,116^{ab}	1,138^{b}	1,053^{bc}	1,062^{bc}	1,084^{ab}	1,004^{c}	12.75	Qu[4]=0.0149
d 35	1,729^{a}	1,716^{ab}	1,646^{b}	1,716^{ab}	1,680^{ab}	1,564^{c}	15.58	C[5]=0.0105
d 42	2,219^{ab}	2,240^{a}	2,201^{ab}	2,160^{ab}	2,116^{b}	1,996^{c}	22.63	Q[6]=0.0270
Cumulative FI (g/bird)								
d 7	112	116	116	126	112	114	1.95	NS
d 14	404	438	440	463	387	439	11.73	NS
d 21	1,047	1,065	1,082	1,077	1,030	1,037	8.34	NS
d 28	1,859	1,854	1,895	1,882	1,804	1,788	13.08	NS
d 35	3,006	2,999	3,009	3,000	2,951	2,890	15.29	NS
d 42	4,151^{ab}	4,139^{ab}	4,183^{a}	4,112^{b}	4,124^{ab}	4,042^{c}	12.75	Quin[7]=0.0460
FCR (g of feed/g of BW)								
d 7	1.33	1.31	1.34	1.41	1.36	1.41	0.01	NS
d 14	1.56	1.63	1.70	1.74	1.53	1.79	0.04	NS
d 21	1.65	1.66	1.73	1.73	1.72	1.74	0.01	NS
d 28	1.73^{ab}	1.69^{b}	1.88^{a}	1.85^{a}	1.73^{ab}	1.86^{a}	0.02	Qu=0.0056
d 35	1.78	1.79	1.88	1.80	1.80	1.90	0.02	NS
d 42	1.91^{bc}	1.88^{c}	1.94^{bc}	1.94^{bc}	1.99^{ab}	2.07^{a}	0.02	L[8]=0.0005

[a-c]Means with different superscripts in a row are significantly different (P<0.05).

[1]Standard error of the mean (n=3).

[2]Refer to polynomial trend analysis.

[3]Not significant (P>0.05).

[4]Qu = Quartic trend.

[5]C = Cubic trend.

[6]Q = Quadratic trend.

[7]Quin = Quintic.

[8]Linear trend.

ตารางที่ 4.4 ผลของกากมันสำปะหลังหมักต่อลักษณะซากของไก่เนื้อ

		Fermented cassava pulp					Pooled	P-value,
	Control	4%	8%	12%	16%	20%	SEM[1]	trend[2]
				% Live weight				
Eviscerated	67.42	67.32	67.02	67.71	65.91	66.10	0.54	NS[3]
Giblets	7.78	8.54	8.17	7.82	7.81	8.38	0.12	NS
				% Eviscerated carcass				
Breast	23.60	21.79	22.03	23.06	23.88	22.19	0.34	NS
Fillet	4.79	5.04	4.78	4.92	5.08	5.03	0.10	NS
Thigh	17.33	17.51	19.22	18.83	18.12	19.78	0.31	NS
Drumstick	15.28	15.20	15.22	15.26	14.69	15.51	0.13	NS
Thigh meat	15.54	14.86	16.57	16.13	15.73	16.95	0.31	NS
Drumstick meat	11.51	11.23	11.47	11.62	10.94	11.21	0.11	NS
Wing	10.95	11.28	11.63	11.48	11.01	11.71	0.12	NS
Abdominal fat	0.73	0.89	0.80	1.09	0.92	1.01	0.05	NS

[1]Standard error of the mean (n=3).

[2]Refer to polynomial trend analysis.

[3]Not significant (P>0.05).

4.3.3 ผลของกากมันสำปะหลังหมักต่อลักษณะอวัยวะภายในของไก่เนื้อ

ถึงแม้ว่ากากมันสำปะหลังหมักไม่มีผลกระทบต่อลักษณะอวัยวะภายในของไก่เนื้อ ซึ่งได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.5 แต่พบว่าน้ำหนักตับของไก่เนื้อกลุ่มได้รับกากมันสำปะหลังหมัก 20% มีค่าเพิ่มขึ้นเป็นเส้นโค้งแบบ cubic (C=0.0018) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 4-16% น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นอาจเป็นผลจากยูเรียซึ่งมีการใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนระหว่างกระบวนการหมัก ยูเรียมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบที่สูง (46%) แต่สารประกอบดังกล่าวจัดอยู่ในกลุ่มไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (non protein nitrogen, NPN) ซึ่งอาจเป็นพิษต่อสัตว์กระเพาะเดี่ยวหากได้รับในปริมาณที่สูง ได้มีการรายงานการใช้ยูเรียระดับ 1% พบว่ามีผลดีต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต (Pervaz et al., 1996) แต่การให้ที่ระดับ 4% มีผลเสียต่อสุขภาพและสมรรถนะการเจริญเติบโต (Pervaz et al., 1996; Javed et al., 1995) อีกทั้ง Shahzad et al. (2012) รายงานว่าการที่ไก่เนื้อได้รับยูเรีย 1% ในอาหารไม่ได้มีผลกระทบต่อน้ำหนักตัว ลักษณะซาก และสภาพเนื้อเยื่อแต่อย่างใด อีกทั้ง Javed (2002) รายงานว่าไก่ที่ได้รับยูเรีย 1% ร่วมกับฟอร์มาลิน 2.5

มิลลิลิตร ไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และอวัยวะภายใน ซึ่งกากมันสำปะหลังหมักที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มียูเรีย 1.31% เมื่อใช้กากมันหมักดังกล่าวในสูตรอาหาร 20% พบว่ามียูเรียหลงเหลืออยู่ในอาหารเพียง 0.28% และเนื่องจากในกระบวนการหมักกากมันสำปะหลังเป็นการหมักในสภาพที่ไม่ปลอดเชื้อ จึงอาจมีการปนเปื้อนของเชื้อราชนิดอื่นในระหว่างการกระบวนการหมัก ซึ่งเชื้อราที่ปนเปื้อนนี้อาจมีการผลิตสารพิษอะฟลาทอกซิน และก่อให้เกิดอันตรายต่อสัตว์ได้ แต่จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินในกากมันสำปะหลังหมัก พบว่าไม่มีการปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาทอกซินแต่อย่างใด นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงค่าทางชีวเคมีของโลหิต ได้แก่ ค่า แอคติวิตี้ของเอนไซม์แอสพาเตทอะมิโนทรานเฟอเรส (aspartate aminotransferase : AST) และเอนไซม์อะลานีนอะมิโนทรานสเฟอเรส (alanine aminotransferase : ALT) ซึ่งเป็นค่าที่ใช้ในการตรวจสอบเบื้องต้นถึงความเป็นพิษของตับ พบว่าค่าแอคติวิตี้ของเอนไซม์ AST และ ALT ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ในไก่เนื้อกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 0-20% (แสดงข้อมูลในข้อ 4.3.5)

4.3.4 ผลของกากมันสำปะหลังหมักต่อลักษณะสีเนื้อและผิวหนังของไก่เนื้อ

เนื่องจากกากมันสำปะหลังหมักเป็นวัตถุดิบอาหารที่ปราศจากสารให้สี (pigment) ดังนั้นในการนำกากมันสำปะหลังหมักไปใช้ในสูตรอาหารไก่เนื้อจึงควรคำนึงถึงเรื่องสารให้สี เนื่องจากสีของเนื้อและหนัง เป็นลักษณะทางกายภาพที่มองเห็นด้วยตาเปล่า และการประเมินสีเนื้อเป็นสิ่งที่ผู้บริโภคจะสามารถวัดความพึงพอใจได้ จากการทดลองพบว่าไก่เนื้อที่ได้รับกากมันสำปะหลังหมักที่ระดับ 0, 4, 8, 12, 16 และ 20% มีลักษณะของสีเนื้อส่วนอกและสะโพก และสีหนังส่วนอกและสะโพก ซึ่งได้แก่ ความสว่าง (lightness) ความแดง (redness) และความเหลือง (yellowness) แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.6 ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากในการประกอบสูตรอาหารทดลองมีการใช้ข้าวโพด กากถั่วเหลือง และถั่วเหลืองไขมันเต็ม ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่มีสารให้สีเป็นส่วนประกอบในสูตรอาหาร โดยข้าวโพดเป็นวัตถุดิบที่มีสารให้สี xanthophylls และ lutein ในปริมาณ 17 และ 0.12 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (NRC, 1994)

ตารางที่ 4.5 ผลของกากมันสำปะหลังหมักต่อลักษณะอวัยวะภายในของไก่เนื้อ

		Fermented cassava pulp					Pooled	P-value,
	Control	4%	8%	12%	16%	20%	SEM[1]	Trend[2]
Organ length (cm/100g BW)								
Duodenum	1.44	1.47	1.44	1.58	1.43	1.55	0.02	NS[3]
Jejunum	3.24	3.67	3.47	3.41	3.35	3.77	0.06	NS
Ileum	3.52	3.68	3.73	3.75	3.59	4.09	0.07	NS
Organ weight (g/100g BW)								
Heart	0.40	0.46	0.43	0.40	0.40	0.39	0.01	NS
Liver	1.66[b]	1.76[b]	1.73[b]	1.69[b]	1.63[b]	1.94[a]	0.03	C[4]=0.0018
Spleen	0.14	0.10	0.12	0.08	0.14	0.13	0.01	NS
Proventriculus	0.32	0.35	0.36	0.34	0.33	0.31	0.01	NS
Gizzard	1.27	1.33	1.15	1.19	1.18	1.18	0.02	NS
Duodenum	0.48	0.52	0.48	0.47	0.42	0.47	0.01	NS
Jejunum	0.88	1.05	1.04	0.92	0.93	1.14	0.03	NS
Ileum	0.85	0.99	0.88	0.80	0.85	0.92	0.02	NS
Gall bladder	0.10	0.11	0.13	0.14	0.11	0.12	0.01	NS
Visceral fat	0.94	0.83	0.95	0.73	0.94	0.71	0.05	NS

[a,b]Means with different superscripts in a row are significantly different (P<0.05).

[1]Standard error of the mean (n=3).

[2]Refer to polynomial trend analysis.

[3]Not significant (P>0.05).

[4]Cubic trend.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.6 ผลของกากมันสำปะหลังหมักต่อลักษณะสีเนื้อและผิวหนังของไก่เนื้อ

		Fermented cassava pulp					Pooled	P-value,
	Control	4%	8%	12%	16%	20%	SEM[1]	Trend[2]
Lightness (L*value)								
Breast meat	56.55	57.62	55.72	57.52	58.20	58.60	0.53	NS[3]
Thigh meat	54.97	55.92	55.13	57.73	57.45	58.00	0.61	NS
Breast skin	68.26	68.04	68.27	69.05	66.01	67.86	0.59	NS
Thigh skin	68.66	68.54	65.25	65.20	64.86	66.54	0.59	NS
Redness (a*value)								
Breast meat	2.52	3.11	2.93	2.67	2.92	3.33	0.12	NS
Thigh meat	4.24	4.15	3.95	3.75	4.81	4.65	0.15	NS
Breast skin	3.49	3.82	3.05	2.76	2.82	4.02	0.19	NS
Thigh skin	3.25	3.76	4.42	4.02	4.12	4.49	0.17	NS
Yellowness (b*value)								
Breast meat	1.60	1.25	1.94	1.00	1.43	2.09	0.16	NS
Thigh meat	1.41	1.65	1.25	2.38	2.91	1.77	0.22	NS
Breast skin	6.90	5.53	5.66	5.22	5.21	5.13	0.32	NS
Thigh skin	6.30	5.96	5.68	4.67	4.65	3.74	0.39	NS

[1]Standard error of the mean (n=3).

[2]Refer to polynomial trend analysis.

[3]Not significant (P>0.05).

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4.3.5 ผลของกากมันสำปะหลังหมักต่อค่าทางชีวเคมีของโลหิตในไก่เนื้อ

เมื่อพิจารณาจากการศึกษาผลของกากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่เนื้อต่อค่าทางชีวเคมีของโลหิต ซึ่งเป็นการตรวจสอบเบื้องต้นที่สามารถบอกให้ทราบถึงสภาพร่างกายของสัตว์ หากระดับของเอนไซม์สูงขึ้นมักเกิดจากเนื้อเยื่อถูกทำลายหรือเกิดความผิดปกติ โดยตับจะมีหน้าที่ในการกำจัดสารพิษ (detoxification) ดังนั้นตับจึงเป็นอวัยวะที่ได้รับผลกระทบโดยตรงเมื่อมีสารที่ก่อให้เกิดความเป็นพิษเข้ามาในร่างกาย การวัดระดับของเอนไซม์แอสพาเตทอะมิโนทรานเฟอเรส (aspartate aminotransferase : AST) และเอนไซม์อะลานีนอะมิโนทรานสเฟอเรส (alanine aminotransferase : ALT) ซึ่งพบมากในตับ และจะถูกปล่อยเข้าสู่กระแสเลือดเพิ่มขึ้นเมื่อเซลล์ตับถูกทำลาย จึงใช้ค่าเอนไซม์เหล่านี้ในการบ่งบอกถึงลักษณะเบื้องต้นของความเป็นพิษจากกากมัน

สำปะหลังหมักในอาหารไก่เนื้อ โดยมีการรายงานเกี่ยวกับค่าปกติในสัตว์ปีกของเอนไซม์ AST คือ มีค่าระหว่าง 52 ถึง 270 U/l และค่าปกติของเอนไซม์ ALT ที่มีค่าระหว่าง 6.5 ถึง 263 U/l อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงของค่าชีวเคมีของโลหิตของสัตว์นั้นจะแตกต่างกันตามชนิดของสัตว์ เพศ อายุ และอาจมีการเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อม (Coles, 2007)

จากการทดลอง พบว่าการใช้กากมันสำปะหลังหมักในอาหารไก่เนื้อที่ระดับ 0, 4, 8, 12, 16 และ 20% มีค่าทางชีวเคมีของโลหิต ดังแสดงในตารางที่ 4.7 โดยพบว่าค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ AST ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สร้างจากเนื้อเยื่อหัวใจ ตับ กล้ามเนื้อลาย แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) คือ มีค่าระหว่าง 300.72 ถึง 358.60 U/l ซึ่งมีค่ามากกว่าค่าปกติของสัตว์ปีก อาจมีสาเหตุมาจากในการทดลองครั้งนี้มีการเก็บตัวอย่างเลือดที่อายุ 42 วัน ซึ่งเป็นช่วงที่สัตว์โตเต็มที่ จึงเกิดความร้อนภายในร่างกายมากกว่าสัตว์ที่อายุน้อย และส่งผลให้มีค่าของเอนไซม์ AST มีค่าที่สูงขึ้น แต่อย่างไรก็ตามมีการรายงานว่าค่าของเอนไซม์ AST ที่สูงกว่า 800 U/l จะแสดงถึงภาวะของตับที่เสียหายอย่างรุนแรง (Thrall et al., 2004) และเมื่อพิจารณาร่วมกับเอนไซม์ ALT ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้วัดความผิดปกติของตับเช่นเดียวกับเอนไซม์ AST แต่เอนไซม์ ALT มีความจำเพาะในการบ่งบอกถึงภาวะอันตรายจากตับมากกว่าเอนไซม์ AST เนื่องจากเอนไซม์ ALT มีตับเป็นแหล่งสร้างที่ใหญ่ที่สุดในร่างกาย (King, 1965) พบว่าค่า ALT มีค่าไม่แตกต่างกัน (P>0.05) ระหว่างกลุ่มทดลอง คือมีค่าระหว่าง 12.25 ถึง 18.80 U/l ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วงปกติของสัตว์ปีก ดังนั้นจากผลการทดลองจึงสามารถใช้กากมันสำปะหลังหมักในสูตรอาหารไก่เนื้อได้โดยไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษ

ตารางที่ 4.7 ผลของกากมันสำปะหลังหมักต่อค่าทางชีวเคมีของโลหิต

	Fermented cassava pulp						Pooled	P-value,
	Control	4%	8%	12%	16%	20%	SEM[1]	Trend[2]
AST (U/l)	358.60	311.53	327.60	300.72	331.60	314.07	7.79	NS[3]
ALT (U/l)	12.25	18.80	15.67	14.20	15.20	12.33	1.35	NS

[1]Standard error of the mean (n=3).

[2]Refer to polynomial trend analysis.

[3]Not significant (P>0.05).

4.4 การทดลองที่ 4: ผลของการใช้กากมันสำปะหลังร่วมกับการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสต่อการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในไก่เนื้อ

ผลการศึกษาการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะเมื่อใช้กากมันสำปะหลังร่วมกับการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสในอาหารไก่เนื้อ แสดงไว้ในตารางที่ 4.8 โดยการเสริมเอนไซม์ไซลาเนส สามารถเพิ่มการย่อยได้ของเยื่อใยในอาหารทดลองสูตรกากมันสำปะหลัง 8 และ 16% ร่วมกับการเสริมเอนไซม์ 0.1% และสูตรกากมันสำปะหลัง 8% ร่วมกับการเสริมเอนไซม์ 0.2% โดยมีค่าการย่อยได้ของเยื่อใยเทียบเท่ากับกลุ่มควบคุม ($P>0.05$) ส่วนอาหารทดลองสูตรอื่นๆ มีการย่อยได้ของเยื่อใยลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P<0.05$) สำหรับการย่อยได้ของสิ่งแห้ง เถ้า และสารอินทรีย์ และการใช้ประโยชน์ได้ของไนโตรเจน พบว่ามีปฏิสัมพันธ์ระหว่างระดับกากมันสำปะหลังและระดับเอนไซม์ที่เสริม ($P<0.05$) โดยการย่อยได้ของสิ่งแห้งและการใช้ประโยชน์ได้ของไนโตรเจนในไก่เนื้อลดลง ($P<0.05$) เมื่อได้รับอาหารทดลองสูตรกากมันสำปะหลัง 12% ร่วมกับการเสริมเอนไซม์ 0.2% อย่างไรก็ตามการใช้กากมันสำปะหลังที่ระดับ 12% ร่วมกับการเสริมเอนไซม์ 0.1% มีผลในการเพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของไนโตรเจนได้สูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) นอกจากนี้การย่อยได้ของสารอินทรีย์ในสูตรอาหารที่มีกากมันสำปะหลัง 12 และ 16% ร่วมกับการเสริมเอนไซม์ 0.1% และการใช้กากมันสำปะหลัง 8 และ 16% ร่วมกับการเสริมเอนไซม์ 0.2% สามารถเพิ่มการย่อยได้ของสารอินทรีย์ได้สูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P>0.05$) โดยภาพรวมแล้วสรุปได้ว่าการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสสามารถเพิ่มการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ โดยการเสริมทั้งสองระดับให้ผลไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาต้นทุนค่าอาหารร่วมด้วยแล้ว ระดับการเสริมที่ 0.1% น่าจะเป็นระดับที่เหมาะสมที่สุด

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.8 ผลของการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสในอาหารที่มีกากมันสำปะหลังเป็นแหล่งวัตถุดิบต่อการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในไก่เนื้อ

Treatment	Xylanase	Digestibility				N
		DM	ASH	CF	OM	Retention
Control		71.61^{ab}	35.92^{a}	35.79^{a}	74.71^{d}	65.50^{bc}
8% DCP	0.1%	70.96^{ab}	36.01^{a}	35.48^{ab}	73.99^{d}	67.08^{ab}
12%DCP		72.26^{a}	30.02^{b}	26.60^{b}	75.82^{ab}	72.97^{a}
16% DCP		69.51^{bc}	30.53^{b}	27.82^{ab}	72.78^{c}	69.51^{ab}
8% DCP	0.2%	69.95^{abc}	30.62^{b}	32.42^{ab}	73.18^{bc}	65.61^{bc}
12%DCP		67.11^{c}	37.72^{a}	25.87^{b}	69.58^{e}	62.23^{c}
16% DCP		69.51^{bc}	28.79^{c}	27.30^{b}	72.78^{a}	68.94^{ab}
Control vs. treatment		NS[1]	0.004	0.024	0.031	NS
Enzyme		0.007	NS	NS	NS	0.002
Cassava pulp		NS	0.0001	0.015	0.001	NS
Enzyme x cassava pulp		0.027	0.0001	NS	0.001	0.023

[a-e]Means with different superscripts in a row are significantly different (P<0.05).

[1]Not significant (P>0.05).

4.5 การทดลองที่ 5: ผลของการใช้กากมันสำปะหลังร่วมกับการเสริมเอนไซม์ไซลาเนส ต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต และคุณภาพซากของไก่เนื้อ

ผลของการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสที่ระดับ 0.1% ในสูตรอาหารที่มีกากมันสำปะหลังเป็นส่วนประกอบทั้ง 3 ระดับ (8, 12 และ 16%) ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.9 เมื่อพิจารณาตลอดช่วงอายุการเลี้ยง พบว่าการใช้กากมันสำปะหลังที่ระดับ 8-16% ร่วมกับการเสริมเอนไซม์ 0.1% ให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (P>0.05) ชี้ให้เห็นว่าการเสริมเอนไซม์ไซลาเนส เป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะสามารถเพิ่มระดับการใช้กากมันสำปะหลังในสูตรอาหารได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Meng et al. (2005) และ Meng and Slominski (2005) ศึกษาการใช้เอนไซม์ย่อยเยื่อใยในหลอดทดลอง พบว่ากลุ่มที่เสริมเอนไซม์สามารถเพิ่มการย่อยเยื่อใยได้สูงขึ้น นอกจากนี้ Mathlouthi et al. (2002) ศึกษาการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสและกลูคาเนสในอาหารที่มีข้าวสาลีเป็นวัตถุดิบแหล่งพลังงานหลัก พบว่าสามารถเพิ่มน้ำหนักของไก่เนื้อได้สูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริมเอนไซม์ และมีน้ำหนักไม่แตกต่างกับกลุ่มที่ใช้ข้าวโพดเป็นวัตถุดิบหลัก อย่างไรก็ตามเป็นที่ทราบกันดีว่าการเสริมเอนไซม์ให้เกิดประสิทธิผลจะต้องคำนึงถึงชนิดของเยื่อใยที่เป็น

องค์ประกอบอยู่ในวัตถุดิบด้วย Malathi and Devegowda (2001) ศึกษาการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสร่วมกับเอนไซม์เซลลูเลสที่ระดับ 0.2% ในกากเมล็ดทานตะวัน กากถั่วเหลือง รำสกัดน้ำมัน และอาหารไก่ พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) จากวัตถุดิบดังกล่าวได้ นอกจากนี้ Meng et al. (2005) ศึกษาการเสริมเอ็นไซม์คาร์โบไฮเดรส (carbohydrase) ในหลอดทดลอง (*in vitro* method) พบว่าสามารถย่อยคาร์โบไฮเดรทในกลุ่มที่ไม่ใช่แป้ง (non starch polysaccharide) ได้ เยื่อใยในกากมันสำปะหลังโดยส่วนใหญ่มีเฮมิเซลลูโลสเป็นส่วนประกอบ (Suksombat et al., 2006; Babayemi et al., 2010) ซึ่งสามารถจำแนกออกเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวได้หลายๆ ชนิด เช่น ไซโลส กลูโคส อะราบิโนส แมนโนส กาแลคโตส เป็นต้น ดังนั้นหากสามารถใช้เอนไซม์เยื่อใยที่หลากหลายชนิดมากขึ้น เช่น glucanase cellulase และ xylanase ก็น่าที่จะสามารถเพิ่มการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของกากมันสำปะหลัง และท้ายที่สุดนำมาซึ่งการเพิ่มระดับการใช้ได้ในสูตรอาหาร

คุณภาพซากและลักษณะอวัยวะภายในของไก่เนื้อ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.10 และ 4.11 ตามลำดับ โดยพบว่าการใช้กากมันสำปะหลังที่ระดับ 8-16% ร่วมกับการเสริมเอนไซม์ไซลาเนส 0.1% ไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพซาก และอวัยวะภายในของไก่เนื้อ สำหรับลักษณะสีของเนื้อได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.12 พบว่าการใช้กากมันสำปะหลังถึงระดับ 16% ไม่มีผลกระทบต่อลักษณะสีของไก่เนื้อแต่อย่างใด สำหรับการทำงานของอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการหลั่งเอนไซม์หรือย่อยอาหาร ถึงแม้ว่าจากการรวบรวมเอกสารในบางงานทดลอง จะพบว่าหากอวัยวะที่ทำงานเกี่ยวกับการย่อยอาหาร มีการทำงานมากไปอาจมีผลทำให้อวัยวะนั้นๆ มีขนาดที่ใหญ่กว่าปกติ โดยอาจจะเกิดการเพิ่มการหลั่งเอนไซม์เข้าสู่ระบบทางเดินอาหารที่มากกว่าปกติ เพราะวัตถุดิบอาหารที่มีเยื่อใยเป็นองค์ประกอบอยู่สูง จะมีผลทำให้การเข้าทำงานของเอนไซม์ชนิดต่างๆ ยาก และไม่เพียงพอต่อความต้องการ (Brenes et al., 1993) แต่จากการทดลองนี้ การเสริมเอนไซม์ไซลาเนสอาจมีผลในการช่วยย่อยเยื่อใย ทำให้ผลต่อพารามิเตอร์ต่างๆ ที่ทำการวัดไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เสริมเอนไซม์

โดยสรุปการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสที่ระดับ 0.1% สามารถเพิ่มระดับการใช้กากมันสำปะหลังได้ถึงระดับ 16% ในสูตรอาหาร โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต คุณภาพซาก และอวัยวะภายในต่างๆ แต่อย่างไรเนื่องจากเอนไซม์ไซลาเนสยังมีราคาที่ค่อนข้างแพง โดยการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสที่ระดับ 0.1% ทำให้ต้นทุนค่าอาหารเพิ่มขึ้น 1.40 บาทต่อกิโลกรัม ดังนั้นการที่จะตัดสินใจเลือกใช้เอนไซม์ดังกล่าวหรือไม่ ต้องคำนึงถึงส่วนต่างระหว่างราคาข้าวโพดและกากมันสำปะหลัง รวมถึงแหล่งของน้ำมันที่จะนำมาใช้เป็นตัวปรับพลังงานในสูตรอาหารด้วยว่ามีความคุ้มทุนมากน้อยเพียงใด

ตารางที่ 4.9 ผลของการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสในอาหารสูตรกากมันสำปะหลังต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ

		0.1% Xylanase enzyme			Pooled	P-value
	Control	8% DCP	12% DCP	16% DCP	SEM[2]	Trend[3]
BW (g/bird)						
d 0	51	51	51	51	0.03	NS[4]
d 7	161[a]	155[ab]	151[b]	150[b]	2.96	NS
d 14	588	500	490	478	37.58	NS
d 21	943[a]	863[b]	885[ab]	894[ab]	20.29	NS
d 28	1,412[ab]	1,502[a]	1,391[b]	1,384[b]	32.13	NS
d 35	2,031	1,898	1,936	1,865	57.10	NS
d 42	2,379	2,307	2,309	2,288	35.31	NS
Cumulative FI (g/bird)						
d 7	137	136	133	130	4.54	NS
d 14	516	493	496	486	9.55	NS
d 21	1209	1160	1171.8	1173.2	12.04	NS
d 28	2155	2244.1	2158	2,235	34.59	NS
d 35	3161	3,184	3,155	3,213	41.46	NS
d 42	4,186	4,354	4,204	4,282	75.82	NS
FCR (g of feed/g of BW)						
d 7	1.24	1.30	1.33	1.31	0.038	NS
d 14	1.28	1.43	1.46	1.48	0.080	NS
d 21	1.54	1.64	1.59	1.58	0.034	NS
d 28	1.73	1.66	1.74	1.81	0.050	NS
d 35	1.70	1.82	1.77	1.87	0.056	NS
d 42	1.88	2.02	1.95	2.02	0.040	NS

[a,b]Means with different superscripts in a row are significantly different (P<0.05).

[1]DCP = Dried cassava pulp.

[2]Standard error of the mean (n=4).

[3]Refer to polynomial trend analysis.

[4]Not significant (P>0.05).

ตารางที่ 4.10 ผลของการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสในอาหารสูตรกากมันสำปะหลังต่อลักษณะซากของไก่เนื้อ

	0.1% Xylanase enzyme				Pooled	P-value
	Control	8% DCP[1]	12% DCP	16% DCP	SEM[2]	Trend[3]
			% Live weight			
Eviscerated	70.56	69.07	69.57	70.35	0.65	NS[4]
Giblets	7.59	8.21	7.95	8.05	0.18	NS
			% Eviscerated carcass			
Breast	20.44	20.39	20.53	21.27	0.69	NS
Fillet	5.46	5.25	5.45	5.53	0.16	NS
Thigh	13.46	13.92	14.11	13.71	0.34	NS
Drumstick	15.80	16.06	16.48	15.83	0.44	NS
Thigh meat	10.06	10.51	10.57	10.25	0.33	NS
Drumstick meat	13.38	13.63	13.39	13.52	0.39	NS
Abdominal fat	1.11	1.30	1.19	1.16	0.18	NS

[1]DCP=Dried cassava pulp.

[2]Standard error of the mean (n=4)

[3]Refer to polynomial trend analysis.

[4]Not significant (P>0.05).

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.11 ผลของการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสในสูตรอาหารกากมันสำปะหลังต่อความยาวและน้ำหนักของอวัยวะในระบบทางเดินอาหารของไก่เนื้อ

	0.1% Xylanase enzyme				Pooled	P-value
	Control	8% DCP[1]	12% DCP	16% DCP	SEM[2]	Trend[3]
Organ length (cm/100g BW)						
Duodenum	1.35	1.34	1.36	1.32	0.04	NS[4]
Jejunum	3.04	3.24	3.30	3.24	0.12	NS
Ileum	3.35	3.58	3.66	3.58	0.14	NS
Ceca	0.79	0.86	0.84	0.83	0.03	NS
Organ weight (g/100g BW)						
Heart	0.45	0.49	0.45	0.51	0.03	NS
Liver	1.97	2.22	2.25	2.04	0.13	NS
Pancreas	0.20	0.21	0.18	0.20	0.01	NS
Spleen	0.31	0.41	0.43	0.39	0.05	NS
Proventiculus	0.71	0.72	0.72	0.70	0.04	NS
Gizzard	1.39	1.46	1.32	1.56	0.07	NS
Duodenum	0.44	0.46	0.43	0.46	0.02	NS
Jejunum	1.00	1.03	0.97	0.99	0.05	NS
Ileum	0.82	0.88	0.87	0.91	0.04	NS
Ceca	0.34	0.34	0.35	0.30	0.04	NS

[1]DCP=Dried cassava pulp.

[2]Standard error of the mean (n=4).

[3]Refer to polynomial trend analysis.

[4]Not significant (P>0.05).

ตารางที่ 4.12 ผลของการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสในอาหารสูตรกากมันสำปะหลังต่อลักษณะสีของเนื้อไก่

	0.1% Xylanase enzyme				Pooled	P-value
	Control	8% DCP[1]	12% DCP	16% DCP	SEM[2]	Trend[3]
Lightness (L^* value)						
Breast meat	62.98	60.52	62.31	63.43	0.96	NS[5]
Thigh meat	56.69	57.43	58.62	57.45	1.49	NS
Redness (a^* value)						
Breast meat	1.33	1.16	1.23	0.74	0.38	NS
Thigh meat	3.79	3.38	4.24	3.91	0.44	NS
Yellowness (b^* value)						
Breast meat	2.20	1.81	1.38	0.99	0.43	NS
Thigh meat	2.33	2.28	1.88	1.41	0.38	NS

[1]DCP = Dried cassava pulp.

[2]Standard error of the mean (n=4).

[3]Refer to polynomial trend analysis.

[4]Not significant (P>0.05).

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

จากผลการทดลอง การใช้กากมันสำปะหลังในอาหารไก่เนื้อโดยภาพรวมทั้งหมด แสดงให้เห็นว่าสามารถใช้กากมันสำปะหลังหมัก และกากมันสำปะหลังเสริมเอนไซม์ไซลาเนสในสูตรอาหารไก่เนื้อได้ถึงระดับ 16% โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการย่อยได้ และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ สมรรถนะการเจริญเติบโต และคุณภาพซาก ซึ่งทั้งกากมันสำปะหลังหมัก และกากมันสำปะหลังเสริมเอนไซม์ไซลาเนส สามารถใช้ในสูตรอาหารไก่เนื้อได้สูงกว่ากากมันสำปะหลังปกติที่ใช้ได้เพียง 8-10% (ยุวเรศ และคณะ, 2550; Khempaka et al., 2009) ทั้งนี้เนื่องจากกากมันสำปะหลังหมักมีคุณค่าทางโภชนะโดยเฉพาะในส่วนของโปรตีน (11.82%) ที่สูงกว่ากากมันสำปะหลังปกติ (1-2%) และการเสริมเอนไซม์ไซลาเนส มีส่วนช่วยในการย่อยเยื่อใยในกากมันสำปะหลังได้มากขึ้น

แต่อย่างไรก็ตาม เนื่องจากทั้งกากมันสำปะหลังและกากมันสำปะหลังหมัก เป็นวัตถุดิบอาหารที่มีค่าพลังงานการใช้ประโยชน์ได้ปานกลาง ดังนั้นเมื่อใช้วัตถุดิบดังกล่าวในสูตรอาหารมากขึ้น จึงต้องใช้ไขมันเพิ่มขึ้นเพื่อปรับระดับพลังงานในสูตรอาหารให้เพียงพอต่อความต้องการของไก่เนื้อด้วย ดังนั้นถึงแม้การเพิ่มระดับการใช้กากมันสำปะหลัง หรือกากมันสำปะหลังหมักจะลดการใช้ข้าวโพดในสูตรอาหารไก่เนื้อลงได้ แต่หากแหล่งของไขมันมีราคาแพงจะทำให้ต้นทุนค่าอาหารเพิ่มขึ้นตามระดับผลิตภัณฑ์จากกากมันสำปะหลังที่ใช้ ดังนั้นการพิจารณาเลือกใช้ผลิตภัณฑ์จากกากมันสำปะหลัง ทั้งในรูปของกากมันสำปะหลังบดแห้ง หรือกากมันสำปะหลังหมักในสูตรอาหารไก่เนื้อเพื่อให้ได้ต้นทุนต่ำสุดนั้น จึงขึ้นอยู่กับราคาของกากมันสำปะหลังบดแห้ง หรือกากมันสำปะหลังหมัก ราคาข้าวโพด ราคาไขมัน และราคาของเอนไซม์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 5
บทสรุป

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาเพื่อหาแนวทางในการเพิ่มระดับการใช้กากมันสำปะหลังในสูตรอาหารไก่เนื้อ โดยการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของกากมันสำปะหลังด้วยวิธีการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ และการเสริมเอนไซม์ไซลาเนสในสูตรอาหารที่มีกากมันสำปะหลังเป็นแหล่งวัตถุดิบ โดยศึกษาผลต่อการย่อยได้และใช้ประโยชน์ของโภชนะ สมรรถนะการเจริญเติบโต และคุณภาพซากของไก่เนื้อ สรุปได้ดังนี้

1. การปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของกากมันสำปะหลัง โดยวิธีการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ 3 ชนิดคือ *A. oryzae, S. cerevisiae* และ *C. utilis* โดยใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนที่มีความเข้มข้นต่างกัน 6 ระดับคือ 0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.25% หมักกากมันสำปะหลังเป็นเวลา 7 วัน พบว่าการหมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อ *A. oryzae* โดยใช้ยูเรียที่ระดับ 0.75% หมักเป็นเวลา 4 วัน มีประสิทธิภาพในการเพิ่มโปรตีน และอะมิโนไนโตรเจนได้ดีกว่าการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* และ *C. utilis*

2. กากมันสำปะหลังหมักสามารถใช้ในสูตรอาหารไก่เนื้อได้ถึงระดับ 16% โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการย่อยได้ และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ สมรรถนะการเจริญเติบโต คุณภาพซากและค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ AST และ ALT

3. การเสริมเอนไซม์ไซลาเนสที่ระดับ 0.1% สามารถเพิ่มการใช้กากมันสำปะหลังในสูตรอาหารไก่เนื้อได้ถึงระดับ 16% โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการย่อยได้และใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะ สมรรถนะการเจริญเติบโต และคุณภาพซาก

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. การใช้กากมันสำปะหลังหรือกากมันสำปะหลังหมักในสูตรอาหารสัตว์อาจมีข้อจำกัด เนื่องจากกากมันสำปะหลังหมักมีลักษณะฟ่าม เบา และมีปริมาณเยื่อใยสูง ดังนั้นหากมีการอัดเม็ดอาหารก่อนนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์ น่าจะช่วยเพิ่มสมรรถนะการเจริญเติบโตได้ดีขึ้น

2. การหมักกากมันในสเกลขนาดใหญ่ ควรมีการออกแบบถังหมักที่มีใบกวนเพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์กระจายตัว และสามารถใช้กากมันสำปะหลังและยูเรียได้อย่างทั่วถึง ซึ่งน่าจะทำให้โปรตีนเพิ่มขึ้น

3. เนื่องจากเยื่อใยที่เป็นองค์ประกอบในกากมันสำปะหลังมีหลายชนิดไม่จำเพาะเพียงแต่ไซแลนเท่านั้น ดังนั้นเพื่อให้การเสริมเอ็นไซม์เกิดประสิทธิผลสูงสุด อาจต้องพิจารณาเสริมเอ็นไซม์หลายชนิดร่วมกัน เช่น เอ็นไซม์กลูคาเนส เซลลูเลส และไซลาเนสเป็นต้น

บรรณานุกรม

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

ไกรวุฒิ พ่วงเดช. (2550). ผลการบำบัดขั้นต้นด้วยเอนไซม์ต่อการย่อยสลายกากมันสำปะหลังจากโรงงานแป้งแบบไร้อากาศ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. (2546). เทคโนโลยีของแป้ง . สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์: กรุงเทพเทพมหานคร.

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

คณิต วิชิตพันธุ์, สุกานดา วนิชวัฒนา และพัฒนา เหล่าไพบูลย์ . (2537). การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากแป้งมันสำปะหลัง. รายงานการวิจัย สำนักคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

จรัญ เจตนะจิตร และจรูญ คำนวณตา. (2530). การเพิ่มโปรตีนในมันสำปะหลังโดยการหมัก II. หมักด้วยเชื้อรา *Aspergillus niger*, *Mucor* sp. W252 กับยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และ *Candida* sp. โดยใช้ถังหมักแบบโคจิ. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 25. สาขาวิทยาศาสาตร์. หน้า 219-224.

เชิดพงษ์ ธนารักษ์, สุจารี แก้วกัน, เพ็ญจิตร ศรีนพคุณ, ทรงศักดิ์ วัฒนชัยเสรีกุล และปิยะมาศ สิริแสงสว่าง . (2546). ผลของอัตราการให้อากาศที่มีต่อการหมักเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* บนมันสำปะหลังในถังแพคเบด. ว. วิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ดวงใจ โอชัยกุล และพรรณวิภา แพงศรี. (2547). การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังโดยเลี้ยงเชื้อผสม *Endomycopis fibuligera* TISTR 5097 และ *Candida utilis* TISTR 5046. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42. สาขาวิทยาศาสตร์ สาขาการจัดการทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม. หน้า 241-247.

ทวีศักดิ์ นิยมบัณฑิต, อรัญ หันพงศ์กิตติกูล และสมเกียรติ ทองรักษ์. (2544). การใช้มันสำปะหลังหมักโปรตีนสูงในอาหารไก่กระทง. ว. สงขลานครินทร์ (ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี) . 23(1): 27-35.

ธิดาพร สุดยิ่ง, อรประพันธ์ ส่งเสริม, เสกสม อาตมางกูร และยุวเรศ เรืองพานิช. (2552). ผลของการเสริม NSP-degrading enzymes ในอาหารที่ใช้กากมันสำปะหลังต่อสมรรถภาพการผลิตไก่เนื้อ. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47. สาขาสัตวศาสตร์. หน้า 58-65.

นันทกร บุญเกิด, สุรีลักษณ์ รอดทอง และหนึ่ง เตียอำรุง . (2543). การเปลี่ยนแป้งมันสำปะหลังโดยกระบวนการทางชีวภาพให้เป็นผลิตภัณฑ์โปรตีนสูงเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์. รายงานการวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

นารีรัตน์ เจริญวัฒนสกุล, ยุวเรศ เรืองพานิช, สุกัญญา รัตนทับทิมทอง และเสกสม อาตมางกูร. (2552). ผลของการใช้กากมันสำปะหลังในอาหารสุกรเล็ก รุ่น และขุนต่อสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพซาก . การประชุมวิชาการ ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47. สาขาสัตวศาสตร์. หน้า148-155.

ประภัสสร บุษหมั่น . (2543). การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังเพื่อใช้เป็นอาหารคนและอาหารสัตว์. รายงานการวิจัย มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

ปรารถนา ปรารถนาดี, จิรชัย พุทธกุลสมศิริ , เจริญชัย โขมภักตราภรณ์ และชุมพล มณฑาทิพย์กุล . (2552). การจัดโซ่อุปทานและโลจิสติกส์ของผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังในประเทศไทย . รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา.

ปรีดา คำศรี, ยุวเรศ เรืองพานิช , เสกสม อาตมางกูร , อรประพันธ์ ส่งเสริม และณัฐชนก อมรเทวภัทร . (2552). ผลของระดับกากมันสำปะหลัง และรูปแบบอาหารต่อสมรรถภาพการผลิตในไก่เนื้อ. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47. สาขาสัตวศาสตร์. หน้า 148-155.

ปิตุนาถ หนูเสน. (2547). การใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบแหล่งพลังงานในอาหารข้นต่อการให้ผลผลิตของโคนมลูกผสมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

พิพัฒน์ เหลืองลาวัณย์ และวิศิษฐิพร สุขสมบัติ. (2550). กากมันสำปะหลังกับการใช้ประโยชน์ในอาหารโคนม. ว. เกษตรสุรนารี'50. หน้า 43-50.

พัชรา บุพิ. (2550). การใช้มันสำปะหลังหมักโปรตีนสูงในอาหารไก่เนื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการผลิตสัตว์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

พรเทพ ถนนแก้ว, คณิต วิชิตพันธุ์, พัฒนา เหล่าไพบูลย์ และไวกูณฐ์ ฤทธิรุฒม์. (2541). การวิจัยและพัฒนาการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวไปเป็นอาหารสัตว์ . รายงานการวิจัย สำนักคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

เพ็ญจิตร ศรีนพคุณ, ปรารถนา เก็จวลีวรรณ, พรรณเพ็ญ พัฒนพงษ์ไพบูลย์, สุพัตรา พรหมช่วย, วรรณวิสาข์ ตั้งอมร และสุภาภรณ์ พิศพันธ์. (2546). การศึกษาผลของอัตราการให้อากาศที่มีต่อปริมาณกลูโคซามีนในมันสำปะหลังหมัก. การประชุมวิชาการวิศวกรรมเคมี และเคมีประยุกต์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 13.

มูลนิธิสถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย. (2551). ผลสำรวจมันสำปะหลัง [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.tapiocathai.org/Mainpage.html

ยุวเรศ เรืองพานิช, อรประพันธ์ ส่งเสริม, สุกัญญา รัตนทับทิมทอง, ณัฐชนก อมรเทวภัทร, สุชาติ สงวนพันธุ์, อรทัย ไตรวุฒานนท์ และอรรถวุฒิ พลายบุญ. (2550). การใช้ประโยชน์ของกากมันสำปะหลังในการนำมาเป็นอาหารสัตว์ปีก. รายงานการวิจัย สำนักคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

เยาวมาลย์ ค้าเจริญ. (2523). คู่มือปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

รณชัย สิทธิไกรพงษ์ และอุทัย คันโธ. (2530). การใช้มันสำปะหลังหมักโปรตีนสูงเป็นอาหารไก่กระทง. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 25. สาขาสัตวศาสตร์. หน้า 65-70.

วราพันธุ์ จินตณวิชญ์, สุกัญญา จัตตุพรพงษ์, ฤทัยชนก มากระนิตย์, สุกัญญา ศรีมงคลงาม และณัฐฐา วิวัฒน์วงศ์วนา . (2549). การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณจุลินทรีย์กลุ่มแลคติคแอซิคแบคทีเรีย และยีสต์ในระหว่างการหมักกากมันสำปะหลัง . ศูนย์ค้นคว้าและพัฒนาวิชาการอาหารสัตว์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน นครปฐม.

วริยา โกสุม, ยุวเรศ เรืองพานิช, สุกัญญา รัตนทับทิมทอง และเสกสม อาตมางกูร. (2552). ผลของการใช้กากมันสำปะหลังในอาหารสุกรอนุบาลต่อสมรรถภาพการผลิต. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47. สาขาสัตวศาสตร์. หน้า 125-131.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2552). สถิติการเกษตรของประเทศไทย. [ออนไลด์]. ได้จาก: http://www.oae.go.th/download/ download_journal/ yearbook 2552. pdf.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2554). การนำเข้า-ส่งออก : แป้งมันสำปะหลัง [ออนไลด์]. ได้จาก: http://www.oae.go.th/export_result.php.

สมาคมผู้ผลิตอาหารสัตว์ไทย. (2554). ราคาวัตถุดิบอาหารสัตว์. [ออนไลด์].ได้จาก : http://www.thaifeedmill.com/tabid/78/default.aspx.

สมใจ ศิริโภค. (2547). จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม . ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินวิโรฒ.

สาโรช ค้าเจริญ. (2547). อาหารและการให้อาหารสัตว์ไม่เคี้ยวอื้อง. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สินชัย พารักษา, กรองแก้ว บริสุทธิ์สวัสดิ์ และมาลิน เสสกุล. (2530). การใช้มันสำปะหลังหมักโปรตีนสูงทดแทนปลายข้าวในอาหารลูกสุกร. ว. เกษตรศาสตร์.

สินชัย พารักษา และนวลจันทร์ แซ่โอ้ว. (2530). การใช้มันสำปะหลังเพิ่มโปรตีนจากเชื้อราและยีสต์ในอาหารสุกรรุ่น-ขุน. ว. เกษตรศาสตร์. 21: 25-32.

สุกัญญา ทิมทอง. (2546). ผลของกากมันสำปะหลังในอาหารต่อสมรรถนะการผลิต และคุณภาพซากของสุกรรุ่น - ขุน. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. (2545). จุลชีววิทยาทางอาหาร. ข้อมูลทางบรรณานุกรมของหอสมุดแห่งชาติ .

สุเมธ ไตรพฤกษชาติ, ยุวเรศ เรืองพานิช, เสกสม อาตมางกูร, อรประพันธ์ ส่งเสริม และสุกัญญา รัตนทับทิมทอง. (2552). ผลของระดับกากมันสำปะหลังในอาหารไก่ไข่ต่อสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพไข่ . การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47. สาขาสัตวศาสตร์. หน้า 165-173.

สุนันทา วงศ์ปิยชน, ละม้ายมาศ ยังสุข และพูลศรี สว่างจิต . (2550). การผลิตไวน์ข้าวจากเชื้อบริสุทธิ์ *Aspergillus oryzae* และ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ต่างๆ . สำนักงานวิจัยและพัฒนาข้าว.

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

อโณชา เลาศรี รัตนชัย และอุทัย คันโธ. (2530). การใช้มันสำปะหลังหมักโปรตีนสูงเป็นอาหารสุกรระยะรุ่น-ขุน. นม. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 25. สาขาสัตวศาสตร์. หน้า 59-64.

อนันตภัทร บุญยะกมล และวิชัย ลีลาวัชรมาศ. (2548). การใช้กากมันสำปะหลังผลิตโปรตีนเซลล์เดียวเพื่อใช้ผสมในอาหารสัตว์ .ว. วิศวกรรมสิ่งแวดล้อมไทย. 19 (2): 41-50.

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

อุทัย คันโธ. (2546). การผลิตมันเส้นคุณภาพดีเกรดอาหารสัตว์ . สมาคมโรงงานผู้ผลิตมันสำปะหลังภาคตะวันออกเฉียงเหนือ.

อุทัย คันโธ, ชินะทัตร์ นาคะสิงห์, นาม ศิริเสถียร และกฤษ์ มงคลปัญญา. (2532). การศึกษาการย่อยได้ของกากมันสำปะหลังหมักแลคโตบาซิลลัสโปรตีนสูงในสุกรหย่านม. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 27. สาขาสัตวศาสตร์. หน้า 199-206.

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

Abu, E.A., Ado, S.A., and James, D.B. (2005). Raw starch degrading amylase production by mixed culture of *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae* growth on sorghum pomace. Afr. J. Biotechnol. 4: 785-790.

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.

Adeola, O., and Cowieson, A.J. (2011). Board-invited review: opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve non ruminant animal production. J. Anim. Sci. 89: 3189-3218.

Aderemi, F.A., and Nworgu, F.C. (2007). Nutritionnal status of cassava peels and root sieviate biodegraded with *Aspergillus niger*. J. Agric. & Environ. Sci. 2(3): 308-311.

Alam, M.J., Howlider, M.A.R., Pramanik, M.A.H., and Haque, M. A. 2003. Effect of exogenous enzyme in diet on broiler performance. Int. J. Poult. Sci. 2 (2): 168-173.

Amerah, A.M., Ravindran, V., and Lentle, R.G. (2009). Influence of wheat hardness and xylanase supplementation on the performance energy utilization digestive tract development and digesta parameter of broiler starter. Anim. Prod. Sci. 49: 71-78.

AOAC. (1990). Official methods of analysis (15th ed.). Association of Analytical Chemists. Washington, DC.

Azoulay, E., Jouanneau, F., Bertrand, J.C., Raphael, A., Janssens, J., and Lebeault, J.M. (1980). Fermentation methods for protein enrichment of cassava and corn with *Candida tropicalis*. Appl. Environ. Microbiol. 39: 41-47.

Babayemi, O.J., Ifut, O.J., Inyang, U.A., and Isaac, L.J. (2010). Quality and chemical composition of cassava wastes ensiled with *Albizia saman* pods. Agric. J. 5(3): 225-228.

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.

Brenes, A., Marquardt, R.R., Guenter, W., and Rotter, B.A. (1993). Effect of enzyme supplementation on the nutritional value of raw, autoclaved, and dehulled lupins (*Lupinus albus*) in chicken diets. Poult. Sci. 72: 2281-2293.

Buachanan, N.P., Kimbler, L.B., Parsons, A.S., Seide, G.E., Bryan, W.B., Felton, E.E.D, and Moritz, J.S. (2007). The effects of nonstarch polysaccharide enzyme addition and dietary energy restriction on performance and carcass quality of organic broiler chickens. J. Appl. Poult. Res. 16: 1-12.

Carlsen, M., and Nielsen, J. (2001). Influence of carbon source on α-amylase production by *Aspergillus oryzae*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 57: 346-349.

Challenge group. (2004). China feed industry information. (Online). Available: http://www.challenge.com.cn/english/index.html

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

Coles, B. H. (2007). Essentials of avian medicine and surgery. Blackwell Publication. Oxford.

Dusel, G., Kluge, H., and Jeroch, H. (1998). Xylanase supplementation of wheat based rations for broiler influence of wheat characteristics. J. Appl. Poult. Res. 7: 119-131.

Engberg, R.M., Hedemann, M.S., Steenfeldt, S., and Jensen, B.B. (2004). Influence of whole wheat and xylanase on broiler performance and microbial composition and activity in the digestive tract. Poult. Sci. 83: 925-938.

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

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 Microbiol. 42: 320-326.

Gao, F., Jiang, Y., Zhou, G.H., and Han, Z.K. (2007). The effects of xylanase supplementation on performance characteristics of the gastrointestinal tract blood parameters and gut microflorain broilers fed on wheat based diets. Anim. Feed Sci. Technol. 142: 173-184.

Hajati, H., Rezaei, M., and Sayyahzadeh, H. (2009). The effects of enzyme supplementation on

performance, carcass characteristics and some blood parameters of broilers fed on corn soybean meal-wheat diets. Int. J. Poult. Sci. 8 (12): 1199-1205.

Hetland, H., Svihus, B., and Choct, M. (2005). Role of insoluble fiber on gizzard activity in layers. J. Appl. Poult. Res. 14: 38-46.

Javed, M.T., Pervaz, S., Sabri, M.A., Khan H.A., Chatha Z.A., and Younis, M. (1995). Studies on body weight, gross pathology and some serum enzymes of urea induced toxicity in broilers chicks. Pakistan Vet. J. 15, 109-112.

Javed, M.T., Sarwar, M.A. Kausar, R., and Ahmad, I. (2002). Effect of feeding different levels of formalin (37% formaldehyde) and urea on broiler health and performance. Vet. Arhiv. 72(5), 285-302.

Jorgensen, H., Zhao, X.Q., Knuden, K.E.B., and Eggum, B.O. (1996). The influence of dietary fibre source and level on the development of the gastrointestinal tract, digestibility and energy metabolism in broiler chickens. Br. J. Nutr. 75: 379-395.

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

King, J. (1965). Practical clinical enzymology. Pub. Van Nostrand, D. Company, Ltd., Canada.

Kocher, A., Choct, M., Porter, M.D., and Broz, J. (2000). The effects of enzyme addition to broiler diets containing high concentrations of canola or sunflower meal. Poult. Sci. 79: 1767-1774.

Lui, X., Feng, J., Xu, Z., Lu, Y., and Liu, Y. (2007). The effect of fermented soybean meal on growth performance and immune characteristics in weaned piglets. Turkish J. Veteri. Anim. Sci. 31(5): 341-345.

Luo, D., Yanga, F., Yang, X., Yao, J., Shi, B., and Zhou, Z. (2009). Effects of xylanase on intestinal morphology, microflora and digestive enzyme performance, blood parameters, activities of broilers fed wheat-based diets. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 22(9): 1288-1295.

Malathi, V., and Devegowda, G. (2001). *In vitro* evaluation of nonstarch polysaccharide digestibility of feed ingredients by enzymes. Poult. Sci. 80: 302-305.

Mathlouthi, N., Lallès, J.P., Lepercq, P., Juste, C., and Larbier, M. (2002). Xylanase and β-glucanase supplementation improve conjugated bile acid fraction in intestinal contents and increase villus size of small intestine wall in broiler chickens fed a rye-based diet. J. Anim. Sci. 80: 2773-2779.

Meng, X., and Slominski, B.A. (2005). Nutritive values of corn soybean meal canola meal and peas for broiler chickens as affected by a multicarbohydrase preparation of cell wall degrading enzymes. Poult. Sci. 84: 1242-1251.

Meng, X., Slominski, B. A., and Guenter, W. (2004). The effect of fat type, carbohydrase and lipase addition on growth performance and nutrient utilization of young broiler fed wheat based diets. Poult. Sci. 83: 1718-1727.

Meng, X., Slominski, B.A., Nyachoti, C.M., Campbell, L.D., and Guenter, W. (2005). Degradation of cell wall polysaccharides by combinations of carbohydrase enzymes and their effect on nutrient utilization and broiler chicken performance. Poult. Sci. 84: 37-47.

Miller, G.L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal. Chem. 31(3): 426-428.

Mushtaq, T., Sarwar, M., Ahmad, G., Nisa, M. U., and Jamil, A. (2006). The influence of exogenous multienzyme preparation and graded levels of digestible lysine in sunflower meal based diet on the performance of young broiler chicks two weeks posthatching. Poult. Sci. 85: 2180-2185.

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

Obadina, A.O., Oyewole, O.B., Sanni, L.O., and Abiola, S.S. (2006). Fungal enrichment of cassava peels proteins. Afr. J. Biotechnol. 5: 302-304.

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., and Akindahunsi, A.A. (2003). Biochemical changes in cassava products (flour and gari) subjected to *Saccharomyces cerevisae* solid media fermentation. Food Chemistry. 82: 599-602.

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

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

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

Olukosi, O. A., Bedford, M.R., and Adeola, O. (2007). Xylanase in diets for growing pigs and broiler chicks. Can. J. Anim. Sci. 87: 227-235.

Pandey, A., Soccol, C.R., Nigam, P., Soccol, V.T., Vandenberghe, L.P.S., and Mohan R. (2000). Biotechnological potential of agro-industrial residues II: cassava bagasse. Bioresour. Technol. (74): 81-87.

Pacheco Chavez R.A., Tavares , L.C., Teixeira, A.C.S.C., Carvalho, J.C.M., Converti, A., and Sato, S. (2004). Influence of the nitrogen source on the productions of α-amylase and glucoamylase by a new *Trichoderma sp*. from soluble starch. Chem. Biochem. Eng. Q. 18 (4): 403-407.

Pervaz, S., Javed, M.T., Sabri, M.T., and Pervaiz, S. (1996). Haematological and biochemical findings in broilers fed different level of urea. Pakistan Vet. J. 16: 75-77.

Pothiraj C, Balaji P, and Eyini, M. (2006). Enhanced production of cellulases by various fungal cultures in solid state fermentation of cassava waste. Afr. J. Biotechnol. 5(20): 1882-1885.

Ratanachomsri, U., Tanapongpipat, S., Eurwilaichirt, L., and Champreda, V. (2009). Simultaneous non-thermal saccharification of cassava pulp by multi-enzyme activity and ethanol fermentation by Candida tropicalis. J. Biosci. Bioeng. 107 (5): 488–493.

Reade, A.E. and Gregory, K.F. (1975). High-temperature production of protein-enriched feed from cassava by fungi. J. Appl. Microbiol. 30: 897-894.

Royal Society of Chemistry. (2004). Carbohydrates. (Online). Available: http://www.rsc.org/Education/Teachers/Resources/cfb/carbohydrates.html.

SAS Institute. (1996). SAS User's Guide : Statistics®. SAS Institute Inc. Cary, NC.

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

Sandhya, C., Sumantha, A., Szakacs, G., and Pandey, A. (2005). Comparative evaluation of neutral protease production by *Aspergillus oryzae* in submerged and solid-state fermentation. Process Biochem. 40(8): 2689-2694.

Sivaramakrishnan, S., Gangadharan, D., Madhavan Nampoothiri, K., Soccol, C.R., and Pandey, A. (2007). Alpha amylase production by *Aspergillus oryzae* employing solid-state fermentation. J. Sci. Ind. Res. 66: 621-626.

Shahzad, M.N., Javed, M.T., Shabir, S., Irfan, M., Hussain, R. (2012). Effects of feeding urea and copper sulphate in different combinations on live body weight, carcass weight, percent weight to body weight of different organs and histopathological tissue changes in broilers. Exp. Toxicol. Pathol. 64, 141-147.

Slominski, B.A., Meng, X., Campbell, L.D., Guenter, W., and Jones, O. (2006). The use of enzyme technology for improved energy utilization from full-fat oilseeds. Part II: Flaxseed. Poult. Sci. 85: 1031-1037.

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. Suranaree J. Sci. Technol. 14: 99-107.

Sundu, B., Kumar, A., and Dingle, J. (2008). The effect of proportion of crumbled copra meal and enzyme supplementation on broiler growth and gastrointestinal development. Int. J. Poult. Sci. 7(5): 511-515.

Sriroth, K., Santisopasri, V., Petchalanuwat, C., Kurotjanawong, K., and Oates, C.G. (1999). Cassava starch granule structure-function properties: influence of time and conditions at harvest on four cultivars of cassava starch. Carbohyd. Polym. 38(2): 161-170.

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.

Tahir, M., Saleh, F., Ohtsuka, A., and Hayashi, K. (2008). An effective combination of carbohydrases that enables reduction of dietary protein in broilers: importance of hemicellulase. Poult. Sci. 87: 713-718.

Thai Industrial Standard Office. (1983). Indigeneous fish sources. (TISO3). Bangkok: Ministry of Industrial.

Thrall, M.A., Terry, W.C., and Baker, D. (2004). Veterinary heamatology and clinical chemistry. Lippincott Wiliams & Wilkins, Philadephia.

Vandeplas, S., Dubois Dauphin, R., Thiry, C., Welling, G.W., Thonart, P., and Thewis, A. (2009). Efficiency of a *Lactobacillus plantarum*-xylanase combination on growth performances,

microflora populations, and nutrient digestibilities of broilers infected with *Salmonella* Typhimurium. Poult. Sci. 88: 1643-1654.

Wang, Z.R., Qiao, S.Y., Lu, W.O., and Li, D.F. (2005). Effects of enzyme supplementation on performance, nutrient digestibility, gastrointestinal morphology and volatile fatty acid profiles in hindgut of broiler fed wheat based diets. Poul. Sci. 84: 875-881.

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

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

Zanella, I., Sakomura, N.K., Silversides, F.G., Fiqueirdo, A., and Pack, M. (1999). Effect of enzyme supplementation of broiler diets based on corn and soybeans. Poult. Sci. 78:561-568.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาคผนวก

Journal of Animal and Veterinary Advances 9 (22): 2859-2862, 2010
ISSN: 1680-5593
© Medwell Journals, 2010

Protein Enrichment of Cassava Pulp Using Microorganisms Fermentation Techniques for Use as an Alternative Animal Feedstuff

Ruthairat Thongkratok, Sutisa Khempaka and Wittawat Molee
School of Animal Production Technology, Institute of Agricultural Technology,
Suranaree University of Technology, Maung, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand

Abstract: This study was aimed to evaluate the optimal condition for improving protein content of cassava pulp through microbial fermentation under the various urea condition for further use as an animal feed. Cassava pulp were fermented with each pure strain of *A. oryzae*, *S. cerevisiae* or *C. utilis* using urea as Nitrogen (N) source (0, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 and 1.25%) for 7 days. Reducing sugar, crude protein, amino N and moisture were measured daily. Chemical analysis revealed that there was a significant increase ($p<0.05$) in the reducing sugar, crude protein and amino N of fermented cassava pulp compared to unfermented. Fermented cassava pulp with *A. oryzae* was found to enhance higher protein and amino N contents than *C. utilis* and *S. cerevisiae*. In which, the optimal condition to produce highest biomass of *A. oryzae* were 0.75% urea and fermented for 4 days this condition can be improved protein and amino N from 2.59 and 0.89% (unfermented) to 17.4 and 15.13%, respectively. It is suggested that the use of cassava pulp fermented with *A. oryzae* at 0.75% urea for 4 days can improve protein and amino N by up to 17.4 and 15.13%, respectively which would subsequently provide a good feedstuff for animals.

Key words: Cassava pulp, fermentation, *Aspergillus oryzae*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida utilis*, improved protein

INTRODUCTION

Thailand is currently the leading exporter of tapioca starch in the world and tends to have the productivity increase to reach 4 million ton per annum in the near future (TTSA, 2010).

Cassava pulp is the solid moist by product of cassava starch manufacture and it represents approximately 10-15% of the original root weight. Therefore, when cassava starch production increases, a large volume of by-product is also generated.

Cassava pulp which is composed of 70% starch is a valuable product to use as a feed for livestock. However, cassava pulp is extremely low in protein and high in fiber contents which limit its use in animals.

Khempaka *et al.* (2009) reported that dried cassava pulp can be used up to 8% in broiler diets, the higher inclusion levels resulted in decreased growth performance and nutrient digestibility.

Chauynarong *et al.* (2009) also reported that the major limitation of using cassava root meal in animal feed because of its low protein content and deficiency of essential amino acid. Therefore, it would be more valuable if this by-product is fermented with microorganisms to improve its nutritive value prior inclusion into animal diets.

An increase in the feed value of cassava pulp could be obtained by increasing its protein content through microorganism fermentation, Oboh *et al.* (2002) reported that cassava fermentation with *Aspergillus niger* can increase the protein content from 4.4-12.2%. In addition, the cultivation of microorganisms such as *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. oryzae*, *A. arborea*, *S. cerevisiae*, *C. utilis* and *C. tropicalis* on low protein content feedstuffs has also been widely reported in the previous studies (Reade and Gregory, 1975; Chumkhunthod *et al.*, 2001; Oboh, 2006).

The objective of this study was conducted to evaluate the optimal conditions for improving protein content of cassava pulp through *A. oryzae*, *S. cerevisiae* and *C. utilis* fermentation under the various urea concentrations.

MATERIALS AND METHODS

Fresh cassava pulp obtained from Korat Flour Industry Co., LTD, Nakhon Racthasima, Thailand was used in this study.

Corresponding Author: Sutisa Khempaka, School of Animal Production Technology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology, Maung, Nakhon Ratchasima 30000, Thailand

Microorganisms and inoculum preparation: Three strains of microorganisms as follows: *Aspergillus oryzae* (3019), *Saccharomyces cerevisiae* (EC1118) and *Candida utilis* (5046) obtained from the Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR) were used in this study. *A. oryzae* was maintained on Potato-Dextrose-Agar (PDA) medium (HiMedia, India). The slants were grown at 30°C for 3 days and stored at 4°C. *S. cerevisiae* and *C. utilis* were maintained on Yeast-Malt-Agar (YMA) (HiMedia, India). Batch cultures were agitated on reciprocal shaker at 200 rpm at 30°C for 1 day and stored at 4°C. Prior inoculation microorganisms to substrate, the spores of *A. oryzae* were dislodged from PDA slant culture using 0.85% NaCl and diluted into 10^8 cell mL^{-1} under sterile condition. While the suspension of *S. cerevisiae* and *C. utilis* were centrifuged at 3000 rpm for 15 min at 4°C and the deposit were washed twice with 0.85% NaCl. The resulting cells were resuspended in 0.85% NaCl to obtain an approximate concentration of 10^8 cells mL^{-1}.

Fermentation procedure: Three factors (microorganism, urea concentration and fermentation time) were performed to investigate the optimum condition for improving nutrient composition of cassava pulp by fermentation process. About 50 g of fresh cassava pulp was taken into a 250 mL Erlenmeyer flask and autoclaved at 121°C for 15 min. Nitrogen (N) source from urea at different levels (0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 and 1.25%) was added to each flask. About 1 mL of each pure strain of *A. oryzae*, *S. cerevisiae* and *C. utilis* suspension (approximately 10^8 cells mL^{-1} of each) was submerged into substrate. Then thoroughly mixed and covered with aluminum foil before subsequently allowing fermented at 30°C for 7 days. The fermentation products were collected daily and used for chemical analysis.

Sample analysis: Crude protein and moisture contents of samples were determined according to AOAC (1990). The reducing sugars were determined using Dinitrosalicylic Acid (DNS) method (Miller, 1959). Amino nitrogen was measured as described by TISO (1983).

Statistical analysis: Data were analyzed as a CRD using repeated measurements in a factorial 3×6×8 with microorganism, urea concentration and fermentation time as the first, second and third factors, respectively (SPSS, 2004). The differences between means were determined by DUNCAN.

RESULTS AND DISCUSSION

Cassava pulp contains low amount of protein and high fiber contents, it is therefore important to enhance its nutritive value to provide a valuable feed ingredient prior fed to animals. In this study, we performed the trail in order to evaluate the capability of *A. oryzae*, *S. cerevisiae* and *C. utilis* when inoculated to ferment with cassava pulp at various urea concentrations (0, 0.25, 0.50, 0.75 1.0 and 1.25%, respectively) for 7 days. The results show that reducing sugar content of cassava pulp had reached a maximum at 418 mg g^{-1} after fermented with *A. oryzae* at urea level of 0.25% for 3 days and subsequently tended to decrease at the end of fermentation period (Fig. 1). While reducing sugar of cassava pulp fermented with *S. cerevisiae* and *C. utilis* remained very low at all of urea levels and fermentation times ($p>0.05$) (Fig. 2, 3). In general, microorganisms have a wide ranging capability to produce enzyme degradation starch into sugar and glucose (Sun *et al*., 2009). In this regard, fungal cellulase and amylase, particularly from *Aspergillus* species is widely used for the commercial enzyme production. Recently, *A. oryzae* has been reported to yield cellulase

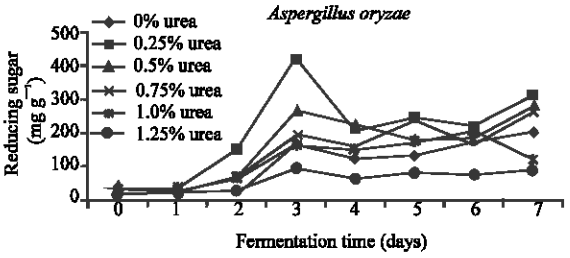


Fig. 1: Reducing sugar content of cassava pulp fermented with *A. oryzae*

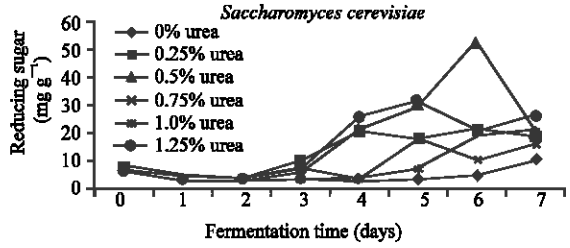


Fig. 2: Reducing sugar content of cassava pulp fermented with *S. cerevisiae*

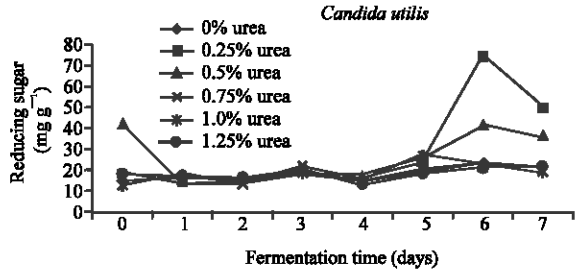


Fig. 3: Reducing sugar content of cassava pulp fermented with *C. utilis*

activity (Begum *et al*., 2009) which it is an important enzyme required for the catabolism of cellulose into smaller sugars. In addition, *A. oryze* also has an excellent capacity of α-amylase production under solid state fermentation using spent brewing grains (Francis *et al*., 2002) and wheat bran (Sivaramakrishnan *et al*., 2007). Therefore, with the highest reducing sugar content of cassava pulp fermentation with A. oryzae may indicate the capability of *A. oryzae* on producing enzymes, especially cellulase and amylase to hydrolyte glucosidic linkages in polysaccharide better than *S. cerevisiae* and *C. utilis*.

When considering the protein and amino N of cassava pulp fermentation produced from *A. oryzae*, *S. cerevisiae* and *C. utilis*, it was found that these contents were changed accordingly with the factors of microorganism, urea level and fermentation time. The results of chemical analysis revealed that protein and amino N contents of fermented cassava pulp were higher than unfermented ($p<0.05$). This phenomenon was due to the effects of microbial cell growth process (Belewu and Babalola, 2009) and N source from urea. Even the research literature on cassava pulp fermentation with microorganisms are not sufficient available, however a lot of information of fermented cassava has been widely reported.

Chumkhunthod *et al*. (2001) reported that cassava root fermented with *C. utilis* can increase crude protein up to 18.3%. In the study, we found that the highest level of crude protein produced from *A. oryzae*, *S. cerevisiae* and *C. utilis* were 18.11% fermented for 1 day at 1.25% urea, 21.21% fermented for 6 days at 1.25% urea and 19.18% fermented for 2 days at 1.25% urea, respectively.

However, this protein enhancement was included with a part of N from urea which is considered as a non-protein N and not useful for non-ruminant animals. In addition, it also has been stated that amino N is responsible for the true amount of cell growth in biomass production more efficient than crude protein.

From this measurement, it can be conclude that the optimum conditions for *A. oryzae*, *S. cerevisiae* and *C. utilis* growth in cassava pulp to perform the highest biomass were 0.75% urea fermented for 4 days, 0.5% urea fermented for 6 days and 1.25% urea fermented for 5 days, respectively.

In these conditions, *A. oryzae*, *S. cerevisiae* and *C. utilis* can produce protein and amino N from 2.59 vs. 0.89% (unfermented) to 17.4 vs. 15.1 and 10.0 vs. 7.58% and 16.82 vs. 9.2%, respectively. Over all, when all data was statistically tests, interaction of microorganism, urea level and fermentation time were found. It is laborious

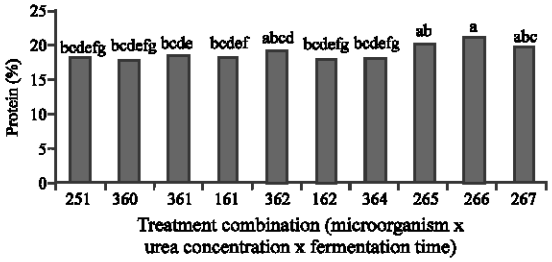


Fig. 4 : Protein contents of cassava pulp fermented with *A. oryzae*, *S. cerevisiae* and *C. utilis* at various urea concentrations during fermentation for 7 days, *Microorganism: 1 = *A. oryzae*, 2 = *S. cerevisiae*, 3 = *C. utilis*, Urea concentration: 1 = 0%; 2 = 0.25%; 3 = 0.5%; 4 = 0.75%; 5 = 1.0%; 6 = 1.25%, Fermentation time: 0 = day 0; 1 = day 1; 2 = day 2; 3 = day 3; 4 = day 4; 5 = day 5; 6 = day 6; 7 = day 7

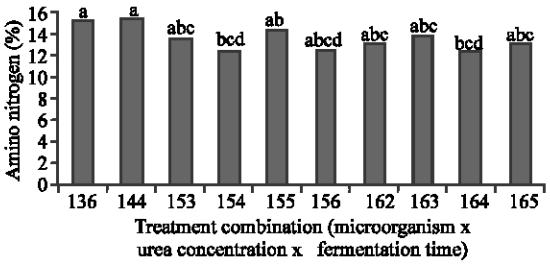


Fig. 5: Amino nitrogen contents of cassava pulp fermented with *A. oryzae S. cerevisiae* and *C. utilis* at various urea concentrations during fermentation for 7 days, *Microorganism: 1 = *A. oryzae*, 2 = *C. utilis*, 3 = *S. cerevisiae*, Urea concentration: 1 = 0%; 2 = 0.25%; 3 = 0.5%; 4 = 0.75%; 5 = 1.0%; 6 = 1.25%, Fermentation time: 0 = day 0; 1 = day 1; 2 = day 2; 3 = day 3; 4 = day 4; 5 = day 5; 6 = day 6; 7 = day 7

to demonstrate all of the interaction effects therefore, we represent only top ten of the best results of crude protein and amino N contents performed through fermentation process (Fig. 4 and 5). From Fig. 4 and 5, >1 condition did not show any significant difference to conclude the results.

CONCLUSION

We have considered several factors in making a decision for obtaining the best beneficial outcome such as low cost and safe for animals. *A. oryzae* appeared to be more efficient by improving nutrient content of cassava pulp when compared to *S. cerevisiae* and *C. utilis*. This

could be attributed to the ability of *A. oryzae* to secrete cellulase and amylase enzymes into cassava pulp during fermentation process in an attempt to make use of the cassava starch as a carbon source. Apart from this, the increase in the amount of the microbial biomass in the form of single-cell proteins may possibly account for the increase in the protein content of the *A. oryzae* fermented cassava products (Akindahunsi *et al*., 1999).

Additionally, this result was according with the reducing sugar produced from *A. oryzae* which showed the higher quantity than *S. cerevisiae* and *C. utilis*. Therefore, these particular results can be conclude that the optimum condition of *A. oryzae* to perform the highest biomass were 0.75% urea fermented for 4 days which can produced crude protein and amino N 17.4 and 15.13%, respectively. It is suggested that the use of cassava pulp fermented with *A. oryzae* at 0.75% urea for 4 days can be improved protein and amino N from 2.59 and 0.89-17.4% and 15.13%, respectively which would subsequently be a good feedstuff for animals.

ACKNOWLEDGEMENT

This research is supported by the Suranaree University of Technology with Korat Cassava Flour Industrial for supporting materials.

REFERENCES

AOAC, 1990. Official Methods of Analysis. 15th Edn., Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC., USA., pp: 200-210.

Akindahunsi, A.A., G. Oboh and A.A. Oshodi, 1999. Effect of fermenting cassava with *Rhizopus oryzae* on the chemical composition of its flour and garri. La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse, 76: 437-440.

Begum, F., N. Absar and M.S. Alam, 2009. Purification and characterization of extracellular cellullase from *A. oryzae* ITCC-4857.01. J. Applied Sci. Res., 10: 1645-1651.

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

Chauynarong, N., A.V. Elangovan and P.A. Iji, 2009. The potential of cassava products in diets for poultry. World's Poult. Sci. J., 65: 23-35.

Chumkhunthod, P., S. Rodtong, N. Teaumroong and N. Boonkerd, 2001. Bioconversion of cassava roots to high protein product for animal feed. Thai J. Biotechnol., 3: 17-25.

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

Khempaka, S., W. Molee and M. Guillaume, 2009. Dried cassava pulp as an alternative feedstuff for broiler: Effect on growth performance, carcass traits, digestive organs and nutrient digestibility. J. Applied Poult. Res., 18: 487-493.

Miller, G.L., 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal. Chem., 31: 426-428.

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

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

Reade, A.E. and K.F. Gregory, 1975. High-temperature production of protein-enriched feed from cassava by fungi. Applied Microbiol., 30: 897-904.

SPSS., 2004. User's Guide. Version 13.0, SPSS Inc., Chicago, IL.

Sivaramakrishnan, S., D. Gangadharan, K. Madhavan Nampoothiri, C.R. Soccol and A. Pandey, 2007. Alpha amylase production by *Aspergillus oryzae* employing solid-state fermentation. J. Sci. Ind. Res., 66: 621-626.

Sun, H., X. Ge, L. Wang, P. Zhao and M. Peng, 2009. Microbial production of raw starch digesting enzymes. Afr. J. Biotechnol., 8: 1734-1739.

TISO, 1983. Indigeneous fish sources. Thai Industrial Standard Office, Ministry of Industrial, Bangkok.

TTSA, 2010. Quantity and value of export tapioca starch statistics. Thai Tapioca Starch Association. http://www.thaitapiocastarch.org/export.asp.

ประวัตินักวิจัย

Name : Sutisa Khempaka (Ph.D.)

Position : Lecturer

Address : School of Animal Production Technology
Institute of Agricultural Technology
Suranaree University of Technology
Nakhon Ratchasima 300000, Thailand
Tel. (66 44) 224572 Fax (66 44) 224150
E- mail: khampaka@sut.ac.th

Date of Birth : September 14, 1975

Place of Birth : Surin

Education :

B.Sc. (1998) Animal Science (First Honor), Ubon Ratchathanee University, Thailand

M.Sc. (2002) Animal Nutrition, Khon Kaen University, Thailand

Ph.D. (2006) Animal Nutrition and Feed Science, Gifu University, Japan

Work Experience :

2002 - present : Lecturer, School of Animal Production Technology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology, Thailand

Papers published in international and national journals

Khempaka, S., K. Koh, and Y. Karasawa. 2006. Effect of shrimp meal on growth performance and digestibility in growing broilers. J. Poult. Sci. 43: 250-254.

Khempaka, S., M. Mochizuki, K. Koh, and Y. Karasawa. 2006. Effect of chitin in shrimp meal on growth performance and digestibility in growing broilers. J. Poult. Sci. 43: 339-343.

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

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

Khempaka, S., C. Chitsatchapong, and W. Molee. 2011. Evaluation of chitin and protein constituents in shrimp meal on growth performance, nutrient digestibility, intestinal microbial populations, volatile fatty acids and ammonia production in broilers. J. Appl. Poult. Res. 20: 1-11.

Pudpila, U., **S. Khempaka**, W. Molee, and C. Hormta. 2011. Comparison of distillation methods of *Mentha cordifolia* Opiz. essential oil on antibacterial activity for application use in animal feeds. J. Agri. Sci. and Tech A. 1336-1340.

จรณี จิตสัจจพงศ์ วิทธวัช โมพี และ**สุทิศา เข็มผะกา**. 2552. ผลของการเสริมเปลือกกุ้งป่นในอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต คุณภาพซาก และการตอบสนองภูมิคุ้มกันของไก่เนื้อ. วารสารแก่นเกษตร. 37 (4): 331-338.

เอกพล พูนชัย **สุทิศา เข็มผะกา** วิทธวัช โมพี และจักร์ โนจากุล. 2553. บทบาทของกลูตามีนต่อสมรรถนะการเจริญเติบโต การตอบสนองต่อภูมิคุ้มกัน และการพัฒนาระบบทางเดินอาหารสุกรหย่านม. วารสารแก่นเกษตร. 38 (1): 39-46.

Papers published in international conferences

Khempaka, S., M. Mochizuki, K. Koh, and Y. Karasawa. 2005. Effects of shrimp meal on growth performance, digestibility, nitrogen retention and meat color in growing broilers. Japanese Poultry Science Association, Spring Meeting 2005. Tokyo, Japan.

Khempaka, S., K. Koh, and Y. Karasawa. 2005. Growth performance, digestibility and nitrogen retention in growing broiler given diets containing 4 to 16% of shrimp meal. Japanese Poultry Science Association, Autumn Meeting 2005. Kumamoto, Japan.

Khempaka, S., K. Koh, and Y. Karasawa. 2006. High calcium content in shrimp meal had little effect on growth performance in growing broilers. Japanese Poultry Science Association, Spring Meeting 2006. Fukuoka, Japan.

Khempaka, S., K. Koh, and Y. Karasawa. 2007. The *in vitro* measurement of dry matter and crude protein digestibilities of shrimp meal. First International Conference on Sustainable Animal Agriculture in Developing Countries, Kunming Yunnan, China.

Khempaka, S., W. Molee, R. Thongkratoke, C. Chitsatchapong, and E. Poonchai. 2008. Fermentation of cassava pulp with *Aspergillus oryzae* and *Candida utilis* for improved nutrients as an alternative feedstuff for animals. The 13th Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies. September 22-26, 2008. Hanoi, Vietnam.

Khempaka, S., and W. Molee. 2008. Effect of cassava pulp on growth performance and digestibility in broilers. The 13th Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies. September 22-26, 2008. Hanoi, Vietnam.

Khempaka, S., C. Chitsatchapong, and W. Molee. 2009. Measurement of chitin efficiencies on growth performance and ammonia production in broilers. The 2nd International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries, November 8-11, 2009. Kuala Lumpur, Malaysia.

Chisatchapong, C., **S. Khempaka**, W. Molee, and C. Homta. 2009. Effect of chitin constituent in shrimp meal on nutrient digestibility, hematology and immune response in broilers. The 2nd International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries. November 8-11, 2009. Kuala Lumpur, Malaysia.

Thongkratok, R., **S. Khempaka**, W. Molee, and C. Homta. 2009. Evaluation of fermented cassava pulp on growth performance and nutrient digestibility in broilers. 2009. The 2nd International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries. November 8-11, 2009. Kuala Lumpur, Malaysia.

Poonchai, E., **S. Khempaka**, W. Molee, and J. Nojakul. 2009. Effect of glutamine supplementation on growth performance and intestinal microbial population of weaned pigs. The 2nd International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries. November 8-11, 2009. Kuala Lumpur, Malaysia.

Khempaka, S., N. Chaiyasit, and W. Molee. 2010. Effect of dietary shrimp meal on microbial populations and ammonia production in broilers administered with *Lactobacillus* spp. and *Bacillus* spp. The 14th Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies. August 23-27, 2010. Pingtung, Taiwan, Republic of China.

Molee, W., S. Khempaka, C. Chitsatchapong and P. Puttaraksa**.** Effects of dietary Tuna Oil on growth performance and fatty acid composition of meat in Thai Native Chickens**.** The 14th

Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies. August 23-27, 2010. Pingtung, Taiwan, Republic of China.

Pudpila, U., **S. Khempaka**, W. Molee, and C. Hormta. 2011. Comparison of distillation methods of *Mentha cordifolia* Opiz. essential oil on antibacterial activity for application use in animal feeds. The 3rd International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries. July 26-29, 2011. Nakhon Ratchasima, Thailand.

Suriyawong, T., **S. Khempaka**, W. Molee, and C. Hormta. 2011. The *In Vitro* evaluation of non-starch polysaccharide digestibility of cassava pulp using xylanase enzyme. The 3rd International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries. July 26-29, 2011. Nakhon Ratchasima, Thailand.

Khempaka, S., and K. Koh. 2011. Effect of covering with acidified sawdust on ammonia volatilization during composting of poultry manure. The 3rd International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries. July 26-29, 2011. Nakhon Ratchasima, Thailand.

Chaokaur, A., **S. Khempaka**, T. Matsumoto, J. Takahashi. and T. Nishida. 2011. Effect of ruminal dosing of mechanical stimulating brush on methane emission from rumen in dry cows. The 3rd International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries. July 26-29, 2011. Nakhon Ratchasima, Thailand.

Khempaka, S., S. Okrathok, L. Hokking, B. Thuhanon, and W. Molee. 2011. Influence of supplemental glutamine on nutrient digestibility and utilization, small intestinal morphology and gastrointestinal tract and immune organ developments of broiler chickens. World Academy of Science, Engineering and Technology. August 24-26, 2011. Paris, France.