# บทที่ 3
# วัสดุอุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

## 3.1 เครื่องมือ วัสดุอุปกรณ์ และสารเคมี

### 3.1.1 เครื่องมือ

1. ตู้บ่มแบบเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิได้ (Controlled Incubator Shaker) รุ่น Innova 4340 ของ New Brunswick, U.S.A.
2. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) รุ่น 240 ของ Binder, Tuttlingen, Germany
3. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH - meter) รุ่น cb 840 ของ Schott-berate GmbH, Germany
4. เครื่องชั่งละเอียด (Analytical balance) รุ่น A 210 P ของ Sartorius, Germany
5. เครื่องชั่งหยาบ (Balance) รุ่น PT 1200 ของ Sartorius, Germany
6. เครื่องปั่นเหวี่ยงชนิดควบคุมอุณหภูมิได้ (Refrigerated centrifuge) รุ่น RC 28 S, Sorvall, U.S.A.
7. ตู้ถ่ายเชื้อ (Larminar flow) รุ่น BH 143 ของ Gellman Scientific, Australia
8. ตู้อบแห้ง (Hot air oven) รุ่น F 240 ของ WTE Binder, Germany
9. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) รุ่น UV-1201, Shimadzu, Japan
10. ปั๊มสุญญากาศ (Vacuum pump) ของ General Electric
11. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิได้ (Water bath) รุ่น 810 - S1 ของ Hottech Instrument, Taiwan
12. กล้องจุลทรรศน์ (Microscope) รุ่น BO 71 ของ Olympus, Tokyo, Japan
13. สไลด์นับเซลล์ (Haemacytometer) ของ Boeco Madein, Germany
14. เครื่องเขย่าผสม (Vortex mixer) รุ่น G 560 E ของ Scientific Industry
15. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) รุ่น H 88LL ของ Kokusan Eshinki, Omron Tateisi Electronics Co, Japan
16. ถังหมักปฏิกรณ์ชีวภาพ (Fermentor)

ขนาด 5 ลิตร รุ่น Biostat B, B. Braun

ขนาด 10 ลิตร รุ่น Bio Flo IV, New Brun Swick, U.S.A.

17. เตาให้ความร้อน (Hot plate) รุ่น M 12/1 ของ Franz MORA KG (GmbH Co,) France

18. เตาเผา (Muffle furnace) รุ่น CSF 1200 ของ Carbolite Furnaces, England

19. ชุดอุปกรณ์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total nitrogen) โดยวิธี Kjeldahl method รุ่น KB 85 ของ Gerhardt

## 3.1.2 วัสดุอุปกรณ์

1. หลอดทดลอง
2. ปิเปตปลอดเชื้อ
3. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
4. กระบอกตวง (Cylender)
5. บีกเกอร์ (Beaker)
6. พาราฟิล์ม (parafilm)
7. กระดาษกรอง (filter paper)
8. ปากคีบ (forcep)
9. ตะเกียงแอลกอฮอล์
10. ลูป (loop)
11. สไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์ (Slide และ Cover glass)

## 3.1.3 สารเคมี

1. 3, 5 - dinitrosalicylic acid reagent
2. Lowry reagent
3. phosphate buffer solution pH 7.0
4. Ethanol (Commercial grade)
5. Sodium hydroxide (NaOH) (Analytical grade ของ Merck, Germany)

## 3.2 จุลินทรีย์และการเตรียมจุลินทรีย์เริ่มต้น

### 3.2.1 จุลินทรีย์

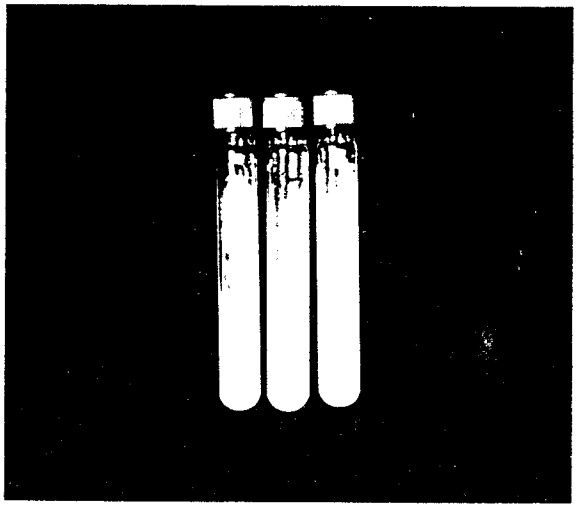
ยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5346 และ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ได้รับจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วท.)

### 3.2.2 อาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ (ภาคผนวก ก)

1. Yeast extract malt extract agar (YM agar)
2. Yeast extract malt extract broth (YM broth)
3. Production medium
4. Starch agar

### 3.2.3 การเตรียมจุลินทรีย์เริ่มต้น

เตรียมอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์สูตร YM agar นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แล้วเทอาหารใส่ในจานเพาะเลี้ยงด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ ทิ้งไว้ให้เย็น นำจุลินทรีย์ทั้ง 2 สายพันธุ์ ในข้อ 3.2.1 มาทำการคัดแยกให้เป็นโคโลนีเดี่ยว ๆ โดยใช้เทคนิค streak plate นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง สังเกตการเจริญของจุลินทรีย์ ที่ขึ้นบนอาหาร นำโคโลนีเดี่ยว ๆ ที่ได้ไปเลี้ยงในอาหารวุ้นเพื่อใช้เป็นจุลินทรีย์เริ่มต้น (stock culture) โดยเก็บจุลินทรีย์ไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (รูปที่ 3.1)



รูปที่ 3.1 *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ที่เลี้ยงในอาหารวุ้น

## 3.3 วิธีการทดลอง

### 3.3.1 การคัดเลือกวัตถุดิบเพื่อนำมาใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

ศึกษาค้นคว้าเอกสารที่เกี่ยวข้องกับปริมาณผลผลิตทางการเกษตร การนำมาใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบสำหรับผลิตอาหารสัตว์ รวมถึงการนำมาใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบสำหรับผลิตโปรตีนเซลล์เดียว สรุปและคัดเลือกวัตถุดิบที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้เพื่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

### 3.3.2 การคัดเลือกจุลินทรีย์เพื่อนำมาใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

ศึกษาค้นคว้าเอกสารที่เกี่ยวข้องกับการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวโดยใช้จุลินทรีย์ต่างๆ สรุปและคัดเลือกจุลินทรีย์ที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวโดยใช้วัตถุดิบในข้อ 3.3.1

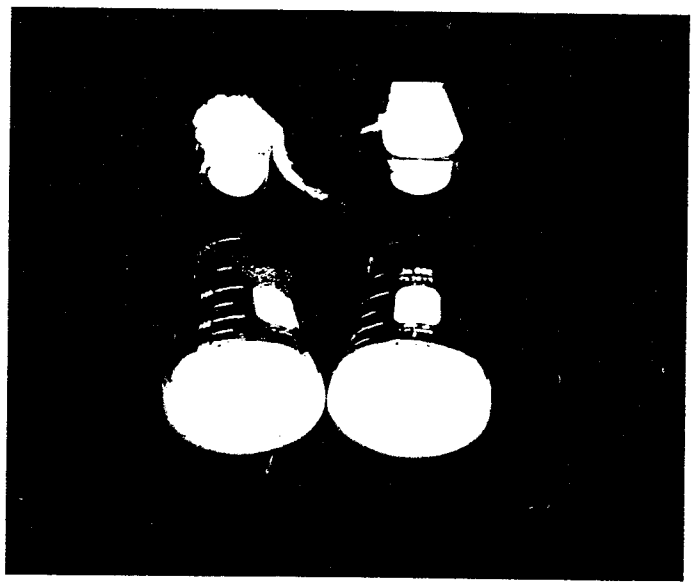
### 3.3.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

3.3.3.1 การเตรียมกล้าเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้เพื่อใช้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

นำจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.3.2 ซึ่งเลี้ยงอยู่ในอาหารวุ้น จำนวน 2 ลูปเต็มมาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร YM ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่บรรจุอยู่ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปบ่มในตู้เขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นถ่ายเชื้อในปริมาตร 2 % (v/v) ลงในฟลาสก์ใหม่ที่บรรจุอาหารเหลวสูตรเดียวกัน ทำการบ่มในสภาวะเดียวกัน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ให้ได้ $10^6$ - $10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อต่อไป (รูปที่ 3.2)

3.3.3.2 การศึกษา pH ที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

นำกล้าเชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมตามวิธีการในข้อ 3.3.3.1 ปริมาตร 2 % (v/v) มาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร YM ที่มีการปรับเปลี่ยนโดยใช้วัตถุดิบที่คัดเลือกได้ในข้อ 3.3.1 เป็นแหล่งคาร์บอนแทนน้ำตาลกลูโคสในความเข้มข้น 4 % (w/v) แล้วทำการปรับ pH ของอาหารให้เป็น 4.5, 5.0 และ 5.5 ด้วย 1 N HCl หรือ 1 N NaOH นำไปบ่มในตู้เขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ นำตัวอย่างไปวิเคราะห์ผล



**รูปที่ 3.2** กล้าเชื้อ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร YM broth

3.3.3.3 การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของแหล่งคาร์บอนต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

ทำการทดลองโดยใช้สภาวะที่เหมาะสมและวิธีการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.3.3.2 แต่ทำการแปรผันความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนให้แตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 1, 2, 3 และ 4 % (w/v) จากนั้นนำไปบ่มในตู้เขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ นำตัวอย่างไปวิเคราะห์ผล

3.3.3.4 การศึกษาชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะสมของแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

ทำการทดลองโดยใช้สภาวะที่เหมาะสมและวิธีการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.3.3.3 แต่ทำการแปรผันชนิดของแหล่งไนโตรเจน 4 แหล่งคือ ammonium sulphate $(NH_4)_2SO_4$), ammonium nitrate ($NH_4NO_3$) , urea ($CO(NH_2)_2$ และ peptone ในความเข้มข้นแตกต่างกันอยู่ในช่วง 0 ถึง 1 % (w/v) จากนั้นนำไปบ่มในตู้เขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 3 , 6, 9, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ นำตัวอย่างไปวิเคราะห์ผล

3.3.3.5 การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

ทำการทดลองโดยใช้สภาวะที่เหมาะสมและวิธีการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.3.3.4 แต่ทำการแปรผันความเข้มข้นของ $KH_2PO_4$ ให้แตกต่างกันอยู่ในช่วง 0 ถึง 1 % (w/v) จากนั้นนำไปบ่มในตู้เขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ นำตัวอย่างไปวิเคราะห์ผล

3.3.3.6 การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ yeast extract ต่อการผลิตโปรตีน เซลล์เดียว

ทำการทดลองโดยใช้สภาวะที่เหมาะสมและวิธีการทดลองเช่น เดียวกับข้อ 3.3.3.5 แต่ทำการแปรผันความเข้มข้นของ yeast extract ให้แตกต่างกันอยู่ในช่วง 0 ถึง 1 % (w/v) จากนั้นนำไปบ่มในตู้เขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 3 , 6, 9, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ นำตัวอย่างไปวิเคราะห์ผล

3.3.3.7 การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ malt extract ต่อการผลิตโปรตีน เซลล์เดียว

ทำการทดลองโดยใช้สภาวะที่เหมาะสมและวิธีการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.3.3.6 แต่ทำการแปรผันความเข้มข้นของ malt extract ให้แตกต่างกันอยู่ในช่วง 0 ถึง 1 % (w/v) จากนั้นนำไปบ่มในตู้เขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 3 , 6, 9, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ นำตัวอย่างไปวิเคราะห์ผล

3.3.3.8 การวิเคราะห์ผล

ในขั้นตอนของการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว ติดตามการเจริญและการผลิตโปรตีนโดยทำการวิเคราะห์สิ่งต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

1. pH

ติดตามการเปลี่ยนแปลงของ pH ในอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์โดยใช้ pH meter

2. จำนวนเซลล์

ติดตามการเจริญของจุลินทรีย์โดยการนับจำนวนเซลล์ด้วย Haemacytometer (ภาคผนวก ข)

3. น้ำหนักแห้งของจุลินทรีย์

ติดตามการเจริญของจุลินทรีย์ โดยการชั่งน้ำหนักแห้ง (ภาคผนวก ข)

4. ปริมาณแป้ง

ติดตามปริมาณแป้งที่เหลืออยู่ในอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์โดยใช้วิธี Iodine method (ภาคผนวก ข)

5. ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ (Reducing sugar)

ติดตามปริมาณของน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลืออยู่ในอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์โดยใช้วิธี 3, 5- dinitro-salicylic acid (ภาคผนวก ข)

6. ปริมาณโปรตีน

ในกรณีการหาปริมาณโปรตีนทั้งหมด (crude protein) ใช้วิธี Kjeldahl method ส่วนการหาปริมาณโปรตีนจริง (true protein) ใช้วิธี Lowry method (ภาคผนวก ข)

## 3.3.4 การศึกษาถึงองค์ประกอบทางเคมีในโปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้

### 3.3.4.1 การเลี้ยงจุลินทรีย์เพื่อผลิตโปรตีนเซลล์เดียวสำหรับใช้ในการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี

หลังจากได้สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวตามวิธีการทดลองในข้อ 3.3.3 นำสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าวมาใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในถังหมักขนาด 5 ลิตร และ 10 ลิตร โดยเติมอาหารลงไปในถังหมักให้มีปริมาตรทำงาน (working volume) 3 ลิตร และ 6 ลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 3.3) จากนั้นทำการเลี้ยงจุลินทรีย์เพื่อผลิตโปรตีนในสภาวะดังนี้ คือ ความเร็วรอบของใบกวน 200 รอบต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิในถังหมักเป็น 30 องศาเซลเซียส อัตราการให้อากาศ 1 vvm ทำการเก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับเพื่อนำไปวิเคราะห์ผล หลังจากนั้นเก็บเกี่ยวเซลล์จุลินทรีย์ที่เวลา 72 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ส่วนใส (supernatant) ทิ้งไป นำเฉพาะส่วนตะกอนเซลล์ (pellet) มาล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 2 ครั้ง แล้วทำการปั่นเหวี่ยงที่สภาวะเดิม ตะกอนของเซลล์ที่ได้นำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนกระทั่งแห้ง (รูปที่ 3.4) นำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีต่อไป

### 3.3.4.2 การวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีในโปรตีนเซลล์เดียว

ทำการวิเคราะห์หาสิ่งต่อไปนี้ (ภาคผนวก ข)

1. ปริมาณโปรตีนรวม (crude protein) โดยใช้วิธี Kjeldahl method
2. ปริมาณกรดอะมิโนบางชนิด (amino acid) โดยการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas chromatography
3. ปริมาณไขมันรวม (crude fat) ใช้วิธี Soxhlet extraction

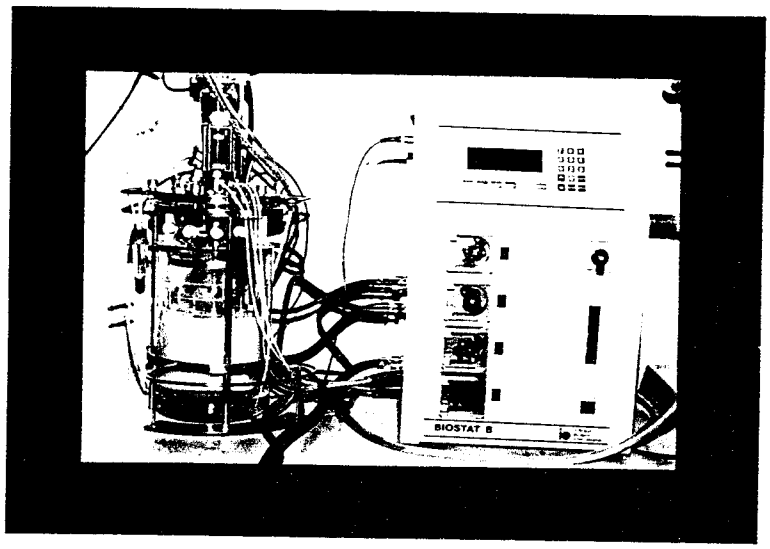
4. ปริมาณกรดไขมันบางชนิด (fatty acid) โดยการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas chromatography

5. ปริมาณเยื่อใย (crude fiber)

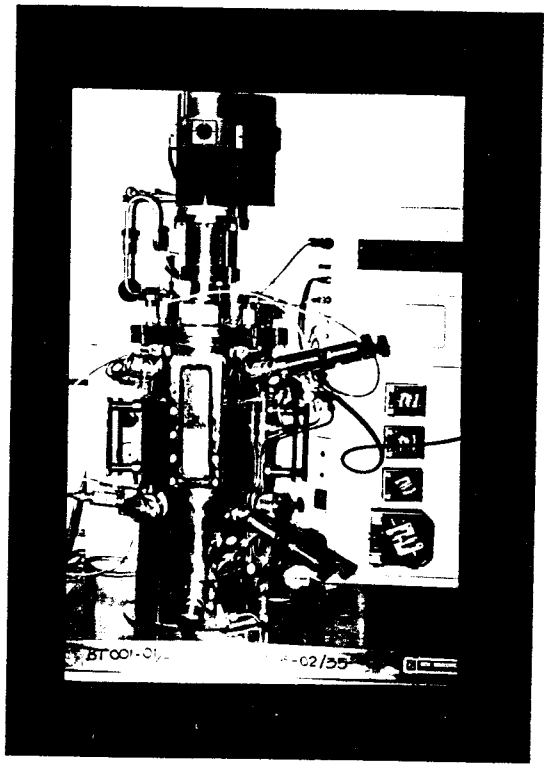
6. ปริมาณแร่ธาตุบางชนิด (minerals) เช่น

- Calcium (Ca) โดยวิธีการไตเตรท

- Phosphorus (P) โดยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer




ก.

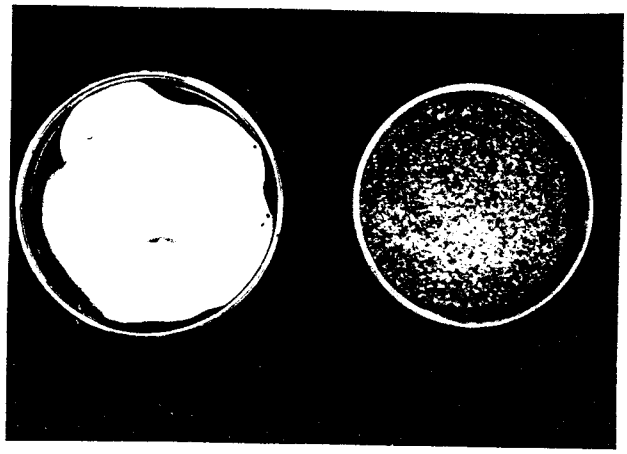


ข.

<u>รูปที่ 3.3</u> การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในถังหมักปฏิกรณ์ชีวภาพ

ก. การผลิตในถังหมัก ขนาด 5 ลิตร

ข. การผลิตในถังหมัก ขนาด 10 ลิตร



ก ข

<u>รูปที่ 3.4</u> ลักษณะของเซลล์ยีสต์ก่อนและหลังการอบแห้ง
ก. ก่อนอบแห้ง ข. หลังอบแห้ง

### 3.3.5 การทดสอบใช้โปรตีนเซลล์เดียวเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนกากถั่วเหลืองบางส่วนในสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงนกกระทาไข่

3.3.5.1 การเลี้ยงจุลินทรีย์เพื่อผลิตโปรตีนเซลล์เดียวสำหรับนำไปใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนกากถั่วเหลืองบางส่วนในสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงนกกระทาไข่

ทำการทดลองโดยใช้สภาวะที่เหมาะสมและวิธีการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.3.4.1 หลังจากที่ทำการเก็บเกี่ยวเซลล์และทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสแล้ว นำเซลล์ที่ได้ไปปั่นให้ละเอียด (รูปที่ 3.4) ด้วยเครื่องปั่น (blender) และนำไปใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนกากถั่วเหลืองบางส่วนในสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงนกกระทาไข่

3.3.5.2 การเตรียมสูตรอาหารสำหรับใช้เลี้ยงนกกระทาไข่

โปรตีนเซลล์เดียวที่เตรียมได้ตามวิธีการทดลองในข้อ 3.3.5.1 ถูกนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนกากถั่วเหลืองในสูตรอาหารสำหรับใช้เลี้ยงนกกระทาไข่ 4 สูตร ดังนี้

สูตรที่ 1 ไม่มีการใช้โปรตีนเซลล์เดียวทดแทนกากถั่วเหลือง (สูตรอาหารควบคุม)

สูตรที่ 2 ใช้โปรตีนเซลล์เดียวทดแทนกากถั่วเหลือง ในปริมาณ 4 % โดยน้ำหนัก
สูตรที่ 3 ใช้โปรตีนเซลล์เดียวทดแทนกากถั่วเหลือง ในปริมาณ 8 % โดยน้ำหนัก
สูตรที่ 4 ใช้โปรตีนเซลล์เดียวทดแทนกากถั่วเหลือง ในปริมาณ 12 % โดยน้ำหนัก
สำหรับองค์ประกอบอื่น ๆ ในสูตรอาหาร แสดงไว้ในภาคผนวก ค.

3.3.5.3 การเตรียมนกกระทาไข่เพื่อใช้ทดลอง

นกกระทาไข่ที่ใช้ในการทดลองเป็นนกกระทาไข่พันธุ์ญี่ปุ่น หลังจากที่ลูกนกกระทาฟักออกจากไข่ (อายุการฟักไข่ ประมาณ 17 วัน) ทำการเลี้ยงโดยใช้สูตรอาหารควบคุม จนกระทั่งนกกระทามีอายุ 42 วัน ซึ่งเป็นช่วงที่เริ่มออกไข่ ก็ทำการจัดนกกระทาเข้าสู่การทดลอง (Treatment) โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 การทดลอง แต่ละการทดลองมีนกกระทา 6 ตัว ในแต่ละการทดลองทำการจัดนกกระทาให้มีน้ำหนักตัวใกล้เคียงกันมากที่สุด

3.3.5.4 การเลี้ยงนกกระทาไข่เพื่อทดสอบสูตรอาหาร

นำนกกระทาไข่ในแต่ละการทดลองที่เตรียมได้ตามวิธีการในข้อ 3.3.5.3 มาเลี้ยงในกรงตับ ทำการเลี้ยงกรงละ 1 ตัว (รูปที่ 3.5) นกกระทาในแต่ละการทดลองทำการเลี้ยงด้วยสูตรอาหารแตกต่างกัน ดังนี้

การทดลองที่ 1 เลี้ยงนกกระทาด้วยสูตรอาหารที่ 1
การทดลองที่ 2 เลี้ยงนกกระทาด้วยสูตรอาหารที่ 2
การทดลองที่ 3 เลี้ยงนกกระทาด้วยสูตรอาหารที่ 3
การทดลองที่ 4 เลี้ยงนกกระทาด้วยสูตรอาหารที่ 4

น้ำและอาหารจะมีอยู่ในภาชนะรองรับ (รางน้ำและรางอาหาร) ซึ่งน้ำจะมีอยู่ตลอดเวลาเพื่อให้นกกระทาได้กินเต็มที่ ส่วนอาหารจะให้วันละ 2 ครั้ง ระยะเวลาที่ใช้ในการเลี้ยงนกกระทาเพื่อทดสอบสูตรอาหาร ใช้เวลาในการเลี้ยง 4 สัปดาห์ ในระหว่างการเลี้ยงติดตามวิเคราะห์สิ่งต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

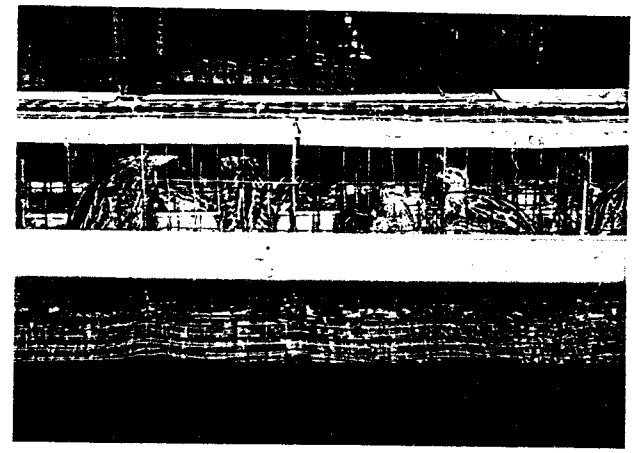
1. ปริมาณอาหารที่นกกระทากินต่อตัวต่อวัน
2. ปริมาณอาหารที่นกกระทาใช้ในการผลิตไข่ 1 ฟอง
3. ผลผลิตและคุณภาพของผลผลิต
   3.1 ติดตามผลผลิตโดยการนับจำนวนไข่

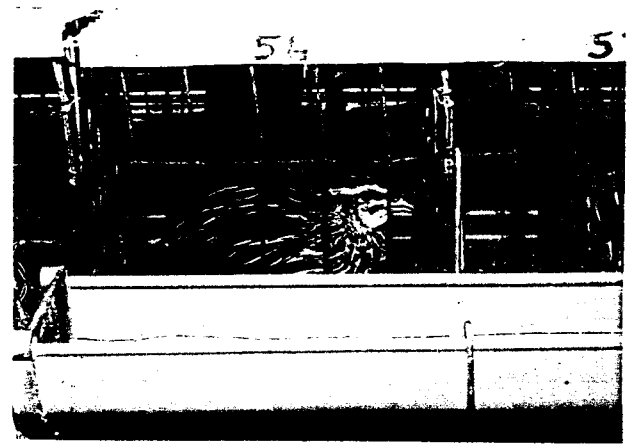
3.2 วิเคราะห์คุณภาพของผลผลิต โดยการตรวจวิเคราะห์คุณภาพของไข่ดังนี้

- สีของไข่แดง โดยใช้แผ่นเทียบสี Munsell
- น้ำหนักไข่ โดยวิธีการชั่งน้ำหนัก
- องค์ประกอบทางเคมีของไข่นกกระทา เช่น ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน ปริมาณ

ความชื้น

- องค์ประกอบทางเคมีในเปลือกไข่นกกระทา เช่น ปริมาณเถ้า ปริมาณ calcium ปริมาณ phosphorus





**รูปที่** 3.5 การเลี้ยงนกกระทาไข่ในกรงตับเพื่อทดสอบสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยง