บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์ที่สำคัญและเคมีภัณฑ์

3.1.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ (Refrigirated centrifuge) รุ่น J2-21 ของบริษัท Beckman Instrument Inc., U.S.A

เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) รุ่น RC-58 ของบริษัท Sorvall Instrument

เครื่องวัดค่าพี-เอช (pH-meter) รุ่น 240 ของบริษัท Corning, U.S.A

เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) รุ่น Spectronic 21 ของบริษัท Bausch & Lomb, U.S.A

เครื่องทำแห้งในภาวะเยือกแข็ง (Freeze Dryer หรือ Lyophilizer) รุ่น Heto FD 2.5 บริษัท Hetoricc co., Ltd., Japan.

เครื่องผสมสาร (Vortex Mixer) รุ่น G560E ของบริษัท Scientific Industries, Inc., U.S.A

หม้ออบฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ (Autoclave) รุ่น HA-36 ของบริษัท Hirayama Manufacturing corporation, Tokyo, Japan

กระดาษกรอง (Millipore Membrane) รุ่น GS ขนาด 0.45 ไมโครเมตรของบริษัท Milli pore coporation, U.S.A

ตู้อบแห้ง (Hot Air Oven) รุ่น UL80 ของบริษัท Memmert GmbH, Germany

แผ่นให้ความร้อน (Hot plate) รุ่น B25 บริษัท Bibby, Japan

ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) รุ่นROB บริษัท Memmert, Germany

3.1.2 เคมีภัณฑ์

แบคโตเปปโตน (Bacto-peptone) ของบริษัท Difco Laboratories, U.S.A

แบคโตโปรตีโอส เปปโตน เบอร์ 3 (Bacto-protease peptone No.3) ของบริษัท Difco Laboratories, U.S.A

สารสกัดจากยีสต์ (Yeast Extract) ของบริษัท Difco Laboratories, U.S.A

สารสกัดจากเนื้อ (Beef Extract) ของบริษัท Difco Laboratories, U.S.A

กลูโคส (Glucose) ของบริษัท E. Merck, Darmstadt, Germany

แอมโมเนียซัลเฟต ($(NH_4)_2 SO_4$) ของบริษัท Fluka Chemical, Switzerland

โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ของบริษัท E. Merck, Darmstadt, Germany

เคมีภัณฑ์ชนิดอื่นๆเป็นเคมีภัณฑ์ระดับวิเคราะห์ (Analytical Reagent Grade) จากบริษัทต่างๆซึ่งนำมาใช้โดยไม่ต้องผ่านการทำให้บริสุทธิ์อีก

3.2 จุลินทรีย์

3.2.1. *Lactobacillus* spp. จำนวน 6 สายพันธุ์ ที่แยกได้จากตัวอย่างลำไส้ไก่ ที่ได้จากตลาดสดในกรุงเทพมหานคร

3.2.2. เชื้อทดสอบจำนวน 8 ชนิดคือ *Bordettella avium, Listeria monocytogenes, Pasteurella multocida, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella enteritidis, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus* ได้รับความอนุเคราะห์จากห้องปฏิการภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3 การแยกเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียจากลำไส้ไก่

เก็บตัวอย่างแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (ล.อ.บ.) จากระบบทางเดินอาหารของไก่ โดยสุ่มเก็บจากตลาดสดแหล่งต่างๆ ในกรุงเทพมหานคร จากนั้นจึงนำลำไส้ไก่ที่เก็บได้นั้นนำมาแยกออกเป็นส่วนๆ เช่น Intestine, rectum, cloaca แล้วตัดลำไส้แต่ละส่วนออกให้เป็นชิ้นเล็กๆ จากนั้นใส่ลงไปใน MRS broth บ่มที่ 37°เซลเซียส 24-28 ชั่วโมง จากนั้นนำมาแยกบน MRS Agar ที่มีบรอม-เครเซิล เพอเพิล เป็น อินดิเคเตอร์ สังเกตโคโลนีที่มีสีเหลืองนำมาขีดบนอาหารเนื้อวุ้นแข็ง แยกซ้ำ 3 ครั้ง จนได้โคโลนีเดี่ยว

3.4 การศึกษาสมบัติบางประการของแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้จากลำไส้ไก่

3.4.1 ลักษณะการเจริญบนอาหารแข็ง (Cultural Characteristic) ศึกษาลักษณะและสีของโคโลนีที่เจริญบนอาหาร MRS Agar เมื่อบ่มเชื้อที่อุณภูมิ 37°เซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

3.4.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphological Characteristic) ศึกษาการย้อมสีแกรมดูการติดสี รูปร่าง ขนาด และการจัดเรียงตัวของเซลล์ ด้วยกล้องจุลทรรศน์

3.4.3 ลักษณะทางสรีรวิทยาและชีวเคมี (Physiological and biochemical Characteristic) ดังต่อไปนี้

-ความสามารถในการสร้างเอนไซม์ คาตาเลส (ภาคผนวก ค. หมายเลข 4.2)

-คุณสมบัติการเป็นแลคติกแอซิดแบคทีเรียประเภท Homofermentative หรือ Heterofermentative (ภาคผนวก ค. หมายเลข 4.3)

-ความสามารถในการผลิตกรดและก๊าซจากกลูโคส (ภาคผนวก ค. หมายเลข 4.3)

-ความสามารถในการหมัก คาร์โบไฮเดรทบางชนิดโดยใช้น้ำตาลทดสอบ 13 ชนิด (ภาคผนวก ก. หมายเลข 2.1)

3.4.4 ศึกษาการเจริญของ *Lactobacillus* spp. ในอาหารที่มีเกลือระดับความเข้มข้นต่างๆ เช่น 2.5, 5.0, 7.5, 10 และ 12.5 % (น้ำหนักต่อปริมาตร) pH 6.5-6.8 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37°เซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตการเจริญของเชื้อโดยใช้ MRS broth โดยการติดตามดูความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อและการเปลี่ยนแปลงสีของอินดิเคเตอร์จากสีม่วงเป็นสีเหลือง (ภาคผนวก ค หมายเลข 4.6)

3.4.5 ศึกษาการเจริญของ *Lactobacillus* spp. ในอาหารที่มีเกลือน้ำดีระดับความเข้มข้นต่างๆ เช่น 2.5, 5.0, 7.5, 10, 12.5 และ 15% (น้ำหนักต่อปริมาตร) pH 6.5-6.8 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37°เซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตการเจริญของเชื้อโดยใช้ MRS broth โดยการติดตามดูความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อ และการเปลี่ยนแปลงสีของอินดิเคเตอร์จากสีม่วงเป็นสีเหลือง (ภาคผนวก ค. หมายเลข 4.7)

3.5 การคัดเลือกแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบ

นำ *Lactobacillus.* spp มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MRS (ภาคผนวกหมายเลข 1.1) บ่มที่อุณหภูมิ 37°เซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Robin, 1979) นำมาปั่นเหวี่ยงแยกเซลล์ด้วยความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4°เซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที นำส่วนใสที่ได้มาผ่านแผ่นกรอง (Millipore Membrane Filter) ขนาด 0.45 ไมโครเมตรปรับ pH ให้ได้ 6.5 โดยใช้ 1.0 N NaOH นำไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อทดสอบ 8 ชนิด ได้แก่ *Bordetella avium, Listeria monocytogenes, Pasteurella multocida, Proteus vulgalis, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus.* (การทดสอบนี้ได้ทดลองแยกเชื้อ *L. casei* สายพันธุ์ Shirota จากยาคูลท์มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อทดสอบทั้ง 8 ชนิด เนื่องจากมีรายงานของนาย Shirota, 1962 กล่าวว่า เชื้อชนิดนี้สามารถสร้างสารต่อต้านจุลชีพป้องกันโรคติดเชื้อที่เกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร)

3.5.1 การเตรียมเชื้อทดสอบ

นำเชื้อทดสอบแต่ละชนิดมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว BHI (Brain Heart Infusion broth ภาคผนวก ก. หมายเลข 1.2) เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง (ขจร, 2536) จากนั้นนำมาปรับความขุ่นของเชื้อให้เท่ากับ 0.5 Mc Farland (0.5 ml 1.75% $BaCl_2$. 2 H_2O 99 ml 0.36 N H_2SO_4) ใช้สำลีพันปลายไม้ Swab บนอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI ใช้ที่เจาะวุ้นเจาะลงบนวุ้นเพาะเชื้อจำนวน 4 หลุม/จานเลี้ยงเชื้อ โดยให้แต่ละหลุมห่างกันพอสมควรหยดส่วนใสที่ได้จาก *Lactobacillus* spp. แต่ละสายพันธุ์ที่เตรียมได้ 80 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมบ่มที่ 4°เซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปบ่มที่ 37°เซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (Inhibition Zone)

3.6 การทดสอบความไวต่อสารปฏิชีวนะชนิดต่างๆ ของ *Lactobacillus* spp. ที่แยกได้ (Agar Diffusion Test, 2532)

การเตรียม Agar plate เอา Agar Medium (45-50°เซลเซียส) ลงใน plate ทิ้งไว้จนแข็งตัว เริ่มต้นโดยการแตะเชื้อ *Lactobacillus* spp. 4-5 โคโลนี เพาะลงบน MRS broth บ่มไว้ที่ 37°เซลเซียส เทียบความขุ่นเทียบเท่า Mc Farland เบอร์ 0.5 (2-8 ชั่งโมง) ถ้าความขุ่นเกิน ปรับโดยทำให้เจือจางลง แล้วใช้สำลีพันปลายไม้จุ่มแตะเชื้อ *Lactobacillus* spp. ขีดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งที่เตรียมไว้ ในลักษณะ 3 ทิศทาง แต่ละทิศวางมุม 60 องศา แล้ววางดิสค์แต่ละแผ่นห่างจากขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อประมาณ 15 มิลลิเมตร ห่างกัน 15-20 มิลลิเมตร คว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มที่ 37°เซลเซียส 24-48 ชั่วโมง นำมาอ่านผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใสเทียบกับค่ามาตรฐานที่กำหนด

3.7 การหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารปฏิชีวนะ (mininal inhibitory concentration,MIC) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus* spp.

นำ Stock Solution ของสารปฏิชีวนะชนิดที่ต้องการทดสอบ (1,000 mcg/ml) มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 50 mcg/ml จากนั้นให้ทำ two fold dilution ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 0.1 mcg/ml แล้วให้ใช้เข็มเขี่ยเชื้อ *Lactobacillus* spp. ที่ต้องการทดสอบใส่ลงใน MRS broth ที่มีความเข้มข้นของยาแตกต่างกัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°เซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาตรวจสอบว่าหลอดไหนที่เชื้อเริ่มไม่เจริญหลอดนั้นคือ MIC (ดูการเจริญของเชื้อโดยดูจากความขุ่นของหลอดและดูการเปลี่ยนสีของ บรอมเครเซิล เพอเพิล จากสีม่วงเป็นเหลือง)

3.8 การทดสอบภาคสนามเพื่อดูการอยู่รอดของ *Lactobacillus* spp. แบบผสม 6 สายพันธุ์ จากลำไส้ไก่

โดยทำการเลี้ยง *Lactobacillus* spp. ที่คัดเลือกได้ทั้ง 6 สายพันธุ์ (CU 1-6) นำมาเลี้ยงที่ 37°เซลเซียส 24 ชั่วโมง แล้วปั่นแยกเซลล์ออกที่ความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แยกส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อออกไปจากนั้นจึงเติม 0.85 % NSS แล้วนำมาทำ Total viable cell count (ภาคผนวก ค. หมายเลข 4.10) ดูว่า stock เชื้อแต่ละสายพันธุ์มีจำนวนเชื้อเริ่มต้นเท่าไร แล้วจึงนำมาปรับความเข้มข้นของเชื้อโดยใช้ 0.85% NSS ให้แต่ละสายพันธุ์มีจำนวน viable cell เป็น10^4, 10^5, 10^6 เซลล์/มล. ตามลำดับ จากนั้นจึงนำเชื้อทั้ง 6 สายพันธุ์ ที่เตรียมได้นำไปให้ไก่กินวันละ 1 มล./ตัว/สายพันธุ์ ใช้วิธีการเตรียม *Lactobacillus* spp. ตามวิธีในข้อ 3.8 แล้วป้อนใส่ปากให้ไก่กินโดยตรง โดยแบ่งไก่ออกเป็น 7 กลุ่มๆ ละ 32 ตัว โดย 1 กลุ่ม เป็น control ไม่ให้กินเชื้อ 1 กลุ่ม และอีก 3 กลุ่ม จะให้ *Lactobacillus* spp. แบบผสม (mix culture) 10^4, 10^5, 10^6 เซลล์/มล./สายพันธุ์ โดยให้กิน 3 วันต่อครั้ง ส่วนอีก 3 กลุ่ม ให้กิน *Lactobacillus* spp. สายพันธุ์ผสม (mix culture) 10^4, 10^5, 10^6 เซลล์/มล./สายพันธุ์ โดยให้กินทุกวัน และทุกๆ 5 วัน จะทำการฆ่าไก่กลุ่มทดสอบ 1, 2, 3, 4, 5, 6 และกลุ่มควบคุม (Control) โดยสุ่มฆ่ากลุ่มละ 3 ตัว เพื่อนำลำไส้ไก่มาทำ Total viable cell count ของแบคทีเรียประจำถิ่น และ *Lactobacillus* spp. และดูการยึดเกาะของ *Lactobacillus* spp. ภายในลำไส้ไก่โดยใช้ SEM (Scanning Electron Microscope ภาคผนวก ง. หมายเลข 5.1 และ 5.2) ทุกวันที่ 1, 5, 10, 15, 19 ของระยะเวลาการเลี้ยง

3.9 การทดสอบภาคสนามเพื่อดูผลของ *Lactobacillus* spp. ต่อการเจริญเติบโตของไก่

ใช้ไก่แรกเกิดอายุ 1 วัน ทำการเลี้ยง 42 วัน โดยแบ่งไก่เป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรกเราจะให้เป็นกลุ่มควบคุม (ไม่กิน *Lactobacillus* spp.) จำนวน 64 ตัว ส่วนกลุ่มที่สองจำนวน 64 ตัว จะให้เป็นกลุ่มที่กินเชื้อ *Lactobacillus* spp. แบบผสม (Mixed culture) ของ *Lactobacillus* spp. จำนวน 10^6 เซลล์/มล./สายพันธุ์ โดยจะให้ลูกไก่กินเชื้อทุกๆ 3 วัน โดยใช้วิธีการเตรียม *Lactobacillus* spp. ตามวิธีในข้อ 3.8 แล้วป้อนใส่ปากให้ไก่กินโดยตรง ตัวละ 1 มล./ตัว/สายพันธุ์/วัน และทำการชั่งน้ำหนักไก่ทุก 7 วัน ทั้งกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ให้กินเชื้อ เพื่อดูอัตราการเจริญเติบโตเปรียบเทียบกันทุกๆสัปดาห์ และทุกๆ สัปดาห์จะทำการฆ่าไก่กลุ่มควบคุมและกลุ่มกิน *Lactobacillus* spp. กลุ่มละ 3 ตัว เพื่อนำเอาลำไส้ไก่มาทำ Total viable cell count ของแบคทีเรียประจำถิ่น และ *Lactobacillus* spp. และดูการยึดเกาะของ *Lactobacillus* spp. ภายในลำไส้ไก่โดยใช้ SEM (Scanning Electron Microscope ภาคผนวก ง. หมายเลข 5.1และ5.2) เพื่อเป็นการยืนยันว่า *Lactobacillus* spp. แบบผสมที่ให้ไก่กินยังคงเกาะอยู่ในลำไส้ไก่ จากนั้นเมื่อเลี้ยงครบ 42 วัน ทำ

การชั่งน้ำหนักไก่ครั้งสุดท้ายทั้ง 2 กลุ่ม และชั่งน้ำหนักอาหารที่ไก่กินเหลือ เพื่อนำมาคำนวณหาประสิทธิภาพการใช้อาหาร (FCR) เปรียบเทียบระหว่างไก่ 2 กลุ่มว่ามีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหรือไม่

$$\text{Feed convertion Ratio (FCR)} = \frac{\text{ปริมาณอาหารที่ไก่กิน}}{\text{น้ำหนักของไก่ที่เพิ่มขึ้น}}$$

3.10 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลน้ำหนักเฉลี่ยของไก่ เมื่อเลี้ยงอายุ 42 วันของทั้ง 2 กลุ่ม นำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวิธีวิเคราะห์การเปรียบเทียบสองตัวแทนแบบ Difference two population means (จรัญ, 2534) ว่า น้ำหนักทั้ง 2 กลุ่มแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหรือไม่

3.11 การทดสอบผลของ *Lactobacillus* spp. ต่อการต้านทานการติดเชื้อ *Salmonella typhimurium* ในไก่

การทดสอบนี้ทำโดยใช้เชื้อ *Salmonella typhimurium* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหารของไก่โดยรับการอนุเคราะห์จากคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยการทดสอบครั้งนี้จะใช้ขนาดของเชื้อ *Salmonella typhimurium* จำนวน 10^3 เซลล์/มล. ซึ่งเป็นขนาด LD_{50} ในหนูขาว (Brownell,1969) และใช้ลูกไก่แรกเกิดอายุ 1 วัน ทำการเลี้ยง 25 วัน โดยแบ่งลูกไก่เป็น 8 กลุ่มทดสอบกลุ่มละ 32 ตัว ดังนี้ คือ

กลุ่มทดสอบควบคุม = กลุ่มทดสอบที่ไม่ให้กินเชื้อ *Lactobacillus* spp. แบบผสม และ *Salmonella typhimurium*

กลุ่มทดสอบโพรไบโอติก(P) = กลุ่มทดสอบที่ให้กินเชื้อ *Lactobacillus* spp. แบบผสม จำนวน 10^6 เซลล์/มล./สายพันธุ์ ทุก 3 วัน

กลุ่มทดสอบ P/H_2O = กลุ่มทดสอบที่ให้กินเชื้อ *Lactobacillus* spp. แบบผสม ในรูปเชื้อผงแห้งโดยละลายน้ำให้ไก่กินทุก 3 วัน

กลุ่มทดสอบ S/H_2O = กลุ่มทดสอบที่ให้กินเชื้อ *Salmonella typhimurium* จำนวน 10^3 เซลล์/มล.ในวันแรกของการเลี้ยงไก่

กลุ่มทดสอบ P_0/S = กลุ่มทดสอบที่ให้กิน *Lactobacillus* spp. จำนวน 10^6 เซลล์/มล./สายพันธุ์ และให้กิน *Salmonella typhimurium* จำนวน 10^3 เซลล์/มล. พร้อมๆกันในวันแรกของการเลี้ยงไก่

กลุ่มทดสอบ P_3/S = กลุ่มทดสอบที่ให้กิน *Lactobacillus* spp. แบบผสม จำนวน 10^6 เซลล์/มล./สายพันธุ์ ในวันที่ 1,3 ของการเลี้ยง และให้กินเชื้อ*Salmonella typhimurium* จำนวน 10^3 เซลล์/มล. ในวันที่ 3 ของการเลี้ยงไก่

กลุ่มทดสอบ P_6/S = กลุ่มทดสอบที่ให้กิน *Lactobacillus* spp. แบบผสม จำนวน 10^6 เซลล์/มล./สายพันธุ์ในวันที่1,3 ,6 ของการเลี้ยง และให้กินเชื้อ *Salmonella typhimurium* จำนวน 10^3 เซลล์/มล. ในวันที่ 6 ของการเลี้ยงไก่

กลุ่มทดสอบ P_{12}/S = กลุ่มทดสอบที่ให้กิน *Lactobacillus* spp. แบบผสม จำนวน 10^6 เซลล์/มล./สายพันธุ์ ในวันที่ 1,3,6,12 ของการเลี้ยง และให้กินเชื้อ *Salmonella typhimurium* จำนวน 10^3 เซลล์ /มล. ในวันที่ 12 ของการเลี้ยงไก่

การทดสอบนี้จะทำการสุ่มฆ่าไก่ ทุก 5 วัน กลุ่มทดสอบละ 3 ตัว เพื่อนำลำไส้ไก่มาทำ Total viable cell count ของแบคทีเรียประจำถิ่น, *Lactobacillus* spp., *Salmonella typhimurium* และดูการอยู่รอดของ *Lactobacillus* spp. ภายในลำไส้ไก่โดยใช้ SEM (Scanning Electron Microscope ภาคผนวก ง. หมายเลข 5.1 และ 5.2)

4. สถานที่ทดลอง

4.1 การเตรียมแลคติกแอซิดแบคทีเรียและอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำที่ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.2 ฟาร์มทดลองใช้โรงเรือนเลี้ยงไก่ของบริษัท กรุงเทพอาหารสัตว์ จำกัด กม. 21 ถนนบางนา-ตราด

4.2.1.กรงเลี้ยงที่ใช้มีขนาด 92" 37" สูง 12" วางซ้อนกัน 3 ชั้นใช้เลี้ยงลูกไก่ตั้งแต่อายุ 1 วัน ถึง 6 สัปดาห์ ภายในกรงให้ความร้อนโดยใช้หลอดไฟขนาด 60 แรงเทียน กรงละ 1 ดวง ให้น้ำและอาหารกินตลอดเวลา

4.2.2. เครื่องชั่งน้ำหนักตัวของไก่ ใช้เครื่องชั่งแบบ Berkal ตลอดทั้ง 6 สัปดาห์

4.2.3.รางน้ำรางอาหารใน 2 สัปดาห์แรก ให้น้ำและอาหารภายในกรงและให้ใน
รางนอกกรง เมื่ออายุ 2-6 สัปดาห์

5. พันธุ์ไก่และอาหารไก่

5.1 ลูกไก่พันธุ์ CB-12-95 CN เพศผู้

5.2 อาหารช่วง 1-19 วันใช้อาหารสูตร CB-I-751

อาหารช่วง 20-42 วันใช้อาหารสูตร CB-I-752

6. ระยะเวลาในการทดลอง

การทดลองเริ่มตั้งแต่เดือน เมษายน 2537 สิ้นสุดเดือน กันยายน 2538

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย