บทที่ 2

วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 แหล่งที่มาของข้อมูล

เกษตรกรเลี้ยงโคเนื้อเพื่อเป็นแหล่งอาหารโปรตีนสำหรับชุมชน และเป็นเสมือนแหล่งเงินเก็บสำหรับครอบครัว เพื่อใช้ในยามจำเป็นหรือฉุกเฉิน และโคพื้นเมืองยังมีความทนทานต่อสภาพภูมิอากาศ โรคและแมลงท้องถิ่นได้ดี อย่างไรก็ตามโคพื้นเมืองมีขนาดตัวเล็ก และมีการเจริญเติบโตที่ต่ำ ทั้งนี้เนื่องจากการเลี้ยงโคพื้นเมืองส่วนใหญ่เป็นการเลี้ยงแบบปล่อยให้แทะเล็ม ตามแปลงหญ้าธรรมชาติ และโดยเฉพาะอย่างยิ่งในฤดูแล้ง โคเนื้อมักจะผอมโซ เนื่องจากได้รับอาหารทั้งคุณภาพและปริมาณไม่เพียงพอ ทำให้มีผลต่อการเจริญเติบโตในช่วงต่อไป ดังนั้นการเสริมอาหารจากแหล่งอื่นโดยเฉพาะแหล่งอาหารโปรตีน ที่สามารถหาได้ง่ายในท้องถิ่น จึงควรเป็นทางออกที่ดีสำหรับเกษตรกร

อาหารและการให้อาหารเป็นปัจจัยหลักในการเลี้ยงสัตว์ นอกเหนือจากปัจจัยอื่นเช่น พันธุ์สัตว์ และการจัดการ เนื่องจากค่าใช้จ่ายในการเลี้ยงสัตว์หากคำนวณจากเริ่มต้นจนถึงส่งขายเกินกว่าร้อยละ 60 ของต้นทุนทั้งหมดเป็นค่าอาหาร ดังนั้นการจัดการในด้านอาหารและการให้อาหารจึงเป็นปัจจัยที่บ่งบอกถึงกำไร หรือขาดทุนในการเลี้ยงสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเลี้ยงโคนม การจัดการในเรื่องการให้อาหารนอกจากจะมีผลกระทบต่อการให้ผลผลิตโดยตรงแล้ว ยังมีผลต่อสุขภาพความคงทนในการให้ผลผลิตน้ำนม (milk persistency) การให้ผลผลิตตลอดชีพของแม่โค ความสมบูรณ์พันธุ์ นอกจากนี้หากการจัดการเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพยังสามารถลดค่าใช้จ่ายอื่นๆ เช่น ค่ายารักษาโรค และค่าดูแลสุขภาพอื่น ๆ เป็นต้น อย่างไรก็ตาม วิธีในการจัดการให้อาหารโคนมในแต่ละฟาร์มมีวิธีการที่แตกต่างกันไปตามสภาพความรู้ ความเข้าใจของเจ้าของฟาร์ม ข้อจำกัดของแต่ละฟาร์ม คุณภาพอาหารที่หาได้ ปัจจัยเหล่านี้มีผลทำให้น้ำนมและคุณภาพของน้ำนม ในแต่ละฟาร์มมีความแตกต่างกันไป ในอดีตอาจมุ่งเน้นเพียงการเพิ่มผลผลิตแต่ปัจจุบันและอนาคต รัฐบาลและหน่วยงานที่เกี่ยงข้องได้ให้ความสำคัญกับนโยบายอาหารปลอดภัย (food safety) ซึ่งรวมถึงคุณภาพของผลผลิตและผลิตภัณฑ์ ที่ต้องได้มาตรฐาน โดยมีการกำหนดมาตรฐานฟาร์ม ควบคุมตั้งแต่วิธีการผลิต การจัดการต่างๆ ภายในฟาร์ม เช่น อาหารและการให้อาหาร การจัดการสุขภาพ การจัดการสิ่งแวดล้อม คุณภาพของผลผลิต และการจัดการกับผลผลิต โดยในแต่ละฟาร์มจะต้องผ่านเกณฑ์มาตรฐานจึงจะได้รับอนุญาต หรืออนุญาตให้ผลิตได้

วัตถุดิบอาหารประเภทโปรตีนจากพืช

มีโปรตีนมากกว่า 16% ขึ้นไป มักผสมกับอาหารพลังงานเพื่อยกระดับโปรตีนในอาหารพลังงานให้สูงขึ้น จนเพียงพอกับความต้องการของสัตว์ แบ่งแหล่งที่ผลิตได้ 2 แหล่ง คือ โปรตีนจากสัตว์และโปรตีนจากพืช

กากปาล์มเมล็ดใน เป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการสกัดน้ำมันปาล์ม กระบวนการกรผลิตเริ่มแรกรับผลปาล์มมาผ่านกระบวนการนึ่ง (sterilization) การนึ่งผลปาล์มสดในหม้อนึ่งความดันโดยการนึ่งจะใช้ไอน้ำโดยมีสภาวะอุณหภูมิ 130-150^{0}C ความดัน 3 บาร์ ระยะเวลาทั้งหมดในการนึ่งต่อรอบ 2 ชั่วโมง ระยะเวลาที่ใช้นึ่ง 65-75 นาที (โครงการพัฒนาสิ่งแวดล้อมเพื่อเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันอุตสาหกรรมไทย, 2549) การนึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อยับยั้งเอนไซม์ที่จะหยุดปฏิกิริยาการแตกตัวเป็นกรดไขมันอิสระอันเป็นผลให้เกิดการสูญเสียน้ำมัน นอกจากนี้ยังทำให้ขั้วปาล์มนิ่มผลปาล์มร่วงจากทลายง่าย ทำให้เนื้อเยื่อของผลปาล์มยุ่ย ง่ายต่อการหีบอัดน้ำมัน ผลปาล์มที่นึ่งเสร็จแล้วจะถูกนำเข้าเครื่องแยกผลปาล์มและทลายปาล์มแยกออกจากกันโดยใช้เครื่อง rotar drum thresher ผลปาล์มที่ได้จะถูกส่งไปยังเครื่องย่อยหรือหมอกวน (digesters) ใช้อุณหภูมิ 80-90^{0}C ประมาณ 15 นาที ส่งต่อไปยังขั้นตอนการสกัดน้ำมันและการจัดการวัสดุเศษเหลือที่เป็นของแข็ง ทำการสกัดด้วยเครื่องสกัดเกลียวอัด (screw press) ส่วนที่เป็นของแข็ง pressed cake ซึ่งประกอบไปด้วยเมล็ดและเยื่อใย จะถูกแยกออก โดยระบบไซโคลนซึ่งประกอบไปด้วยลมหลังจากนั้นนำเมล็ดปาล์ม และกะลาไปเข้าระบบแยกด้วยลมและความถ่วงจำเพาะ (clay bath) เพื่อแยกกะลาและเมล็ดในออกจากกันโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มจะขายเมล็ดในให้กับโรงงานสกัดน้ำมันเมล็ดใน (crude palm kernel oil, CPKO) แล้วนำเส้นใยไปเป็นเชื้อเพลิง การบีบน้ำมันเมล็ดในเป็นการนำเมล็ดในที่ได้จากการกะเทาะมาก็นำเข้าเครื่องบีบน้ำมัน ซึ่งมีความดันสูงเป็นตัวบีบ บีบเซลล์ให้แตกจนมีน้ำมันไหลออกมา เมื่อน้ำมันหมดจึงแยกส่วนที่เป็นกากเมล็ดในเกิดขึ้น ซึ่งสามารถนำมาขายเป็นอาหารสัตว์

การย่อยและการดูดซึมโปรตีนและคาร์โบไฮเดรทในสัตว์เคี้ยวเอื้อง

พลังงานที่สัตว์เคี้ยวเอื้องนำไปใช้ประโยชน์มาจากคาร์โบไฮเดรท ประกอบด้วยธาตุ คาร์บอน (carbon) ไฮโดรเจน (hydrogen) และ ออกซิเจน (oxygen) ซึ่งสามารถแบ่งกลุ่มตามโครงสร้างได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ คือคาร์โบไฮเดรทที่เป็นโครงสร้าง (structural carbohydrate) เช่นพืชอาหารสัตว์ cellulose, hemicellulose และคาร์โบไฮเดรทที่ไม่เป็นโครงสร้าง (non-structural carbohydrate) เช่น แป้งและน้ำตาล

การย่อย soluble sugars, แป้ง และ sucrose คาร์โบไฮเดรทส่วนใหญ่จะถูกย่อยได้ simple sugars (hexoses) โดยเอนไซม์ที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ (microbial enzymes) โดยเฉพาะ cellulose simple sugars ที่ได้จะถูกจุลินทรีย์ใช้ประโยชน์ โดยผ่านกระบวนการเมแทบอลิซึม ภายในเซลล์จุลินทรีย์เองได้ผลิตผลของ pyruvate, lactate และ CO_2, VFAs (acetic, propionic และ butyric acids), methane และพลังงานในรูป adenosinetriphosphate (ATP)

กระบวนการย่อยและ เมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรท

Hexose ----------> 2Pyruvate + 4H + 2ATP

Pyruvate + H_2O ----------> 2acetate + CO_2 + 2H + ATP

Pyruvate + 4H ----------> 2Propionate + H_2O + ATP

Pyruvate ----------> Butyrate + $2CO_2$ + 2ATP

CO_2 + $4H_2$ ----------> CH_4 + $2H_2O$ + ATP

VFAs จะถูกดูดซึมผ่าน rumen wall ทั้งนี้อัตราการซึมผ่านเป็นแบบ free diffusion ซึ่งไม่ได้อาศัยพลังงานในรูป ATP เป็นตัวช่วยในการดูดซึม ระดับความเป็นกรด-ด่าง (pH) ภายใน rumen มีผลต่อการดูดซึม VFAs อัตราการดูดซึมของ VFAs จะมีค่าสูงตามลำดับ คือ C4 > C3 > C2 ในสารละลายที่เป็นกรดที่ pH ระหว่าง 5.0-5.5 อัตราการดูดซึมจะเร็วกว่าที่ pH 7.5-8.0 (เมธา, 2533)

การย่อยและการดูดซึมอาหารโปรตีน

โปรตีนจัดเป็นโภชนะที่มีความสำคัญต่อร่างกายสัตว์ โปรตีนประกอบไปด้วยธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน และไนโตรเจน โปรตีนประกอบไปด้วยกรดอะมิโนเชื่อมต่อกันเป็นลูกโซ่ยาวด้วยพันธะเป็บไทป์ อาหารโปรตีนที่สัตว์เคี้ยวเอื้องกินเข้าไปจะถูกจุลินทรีย์ย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักเป็นสารประกอบอย่างง่ายเช่น แอมโมเนีย, VFAs และคาร์บอนไดออกไซด์ สารประกอบเหล่านี้รวมทั้งแอมโมเนียที่ได้จาก non-protein nitrogen (NPN) และ free amino acids จะถูกใช้ประโยชน์โดยจุลินทรีย์เพื่อการเจริญเติบโต ซึ่งแบคทีเรียจะใช้ประโยชน์จากกรดอะมิโนนำมาผลิตเป็นจุลินทรีย์โปรตีน ซึ่งเป็นแหล่งโปรตีนหลักในสัตว์เคี้ยวเอื้อง ในส่วนของโปรตีนจากอาหารที่ไม่ถูกย่อยสลายในกระเพาะหมัก (escaped protein, undegraded protein, undegradable protein, by-pass protein) โปรตีนก็จะถูกไหลผ่านไปถูกย่อยต่อด้วย proteolytic enzymes ได้กรดอะมิโนแล้วซึมผ่านผนังลำไส้ และกระแสเลือด โปรตีนที่ไม่ถูกย่อยก็จะถูกขับออกในรูปของมูล (เมธา, 2533)

การป้องกันการย่อยสลายโปรตีนโดยการใช้ความร้อน

การให้ความร้อนนั้นมีหลายวิธี เช่น การอัดเม็ด การสกัดน้ำมัน การคั่ว การอบ การนึ่ง การต้ม และการตากแดด เป็นต้น วิธีการป้องกันโดยใช้ความร้อนนี้เป็นที่นิยมทำกันในปัจจุบันวิธีการหนึ่ง โดยที่กลไกของความร้อนจะทำให้เกิดปฏิกิริยาเกิดเป็นสีน้ำตาล (non-enzymatic browning reaction) ชนิดปฏิกิริยา maillard reaction คือปฏิกิริยาที่เกิดในหมู่ carbonyl group (ของ aldehyde, ketones และ reducing sugar เช่น กลูโคส ฟรุคโตส เพนโทส) กับ amino group (ของ กรดอมิโน, amines, peptide และ protein) ได้เป็นสารประกอบในรูป amino sugar complex (Van Soest, 1994) เกิดพันธะที่ต่อต้าน enzymatic hydrolysis โดยจับกันที่หมู่ amines และ carbonyl group เพื่อหลบเลี่ยงการย่อยสลายในกระเพาะหมัก จากการศึกษาของเมธา (2533) พบว่าการใช้อุณหภูมิที่สูงขึ้น จะทำให้มีค่า RUP ที่สูงขึ้น ถ้าใช้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงเกินไป จะทำให้การใช้ประโยชน์ได้ลดลง เกิดการทำลายกรดอะมิโน เช่น lysine นอกจากนั้น Faldet and Satter (1991) ทดลองใช้ความร้อน กับถั่วเหลืองพบว่าปริมาณของ available lysine ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่อุณหภูมิที่สูงขึ้น ก็จะทำให้โปรตีนที่ไหลผ่านสูงขึ้น

2.2 วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล

การทดลองที่ 1 การศึกษาระดับของอาหารโปรตีนและพลังงานที่เหมาะสมโดยใช้ฟางหมักยูเรียเป็นแหล่งอาหารหยาบในแพะเนื้อ

ใช้แพะเนื้อเพศเมีย พันธุ์ลูกผสมพื้นเมืองและแองโกล-นูเบียน 50-75% อายุเริ่มต้น 7-8 เดือน น้ำหนักเฉลีย 17.0±5.0 กิโลกรัม

การทดลองที่ 1 จัดการทดลองแบบ 4x4 ลาตินสแควร์ จำนวน 3 ซ้ำ (4x4 latin square design with 3 replications) โดยมี 2 ปัจจัยคือ

ปัจจัยที่ 1 คือระดับโปรตีน 2 ระดับ ที่ระดับโปรตีน 13% และ 15%

ปัจจัยที่ 2 คือระดับพลังงาน 2 ระดับ ที่ระดับพลังงาน 70% TDN และ 75% TDN

แบ่งการทดลองออกเป็น 4 กลุ่มตาม Tretment

กลุ่มที่ 1 ได้รับระดับโปรตีน 13% และ พลังงาน 70% TDN (LPLE)

กลุ่มที่ 2 ได้รับระดับโปรตีน 13% และ พลังงาน 75% TDN (LPLE)

กลุ่มที่ 3 ได้รับระดับโปรตีน 15% และ พลังงาน 70% TDN (LPLE)

กลุ่มที่ 4 ได้รับระดับโปรตีน 15% และ พลังงาน 75% TDN (LPLE)

ใช้แพะเนื้อกลุ่มละ 3 ตัว ทั้งหมดจำนวน 12 ตัว จัดแพะให้อยู่ในคอกขังเดี่ยวโดยมีรางอาหารและถังใส่น้ำสำหรับแพะทุกตัว จัดสัตว์เข้าทดลองตามแผนการทดลอง แล้วให้อาหารตามกลุ่มทดลองที่กำหนดไว้โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 ช่วงการทดลองโดยแต่ละช่วงการทดลองใช้เวลา 21 วัน ใช้เวลาการปรับตัวก่อนเปลี่ยนช่วงการทดลอง 14 วัน

อาหารที่ใช้ในการทดลอง

การให้อาหารแก่สัตว์ทดลองได้จากตารางที่ 3.2 โดยสัตว์ทุกตัวจะได้รับอาหารตามสูตรอาหารดังภาพที่ 3.1 แพะแต่ละกลุ่มจะได้รับอาหารข้นปริมาณ 300 กรัม/ตัว/วัน ตามสูตรอาหาร แพะได้รับอาหารหยาบและอาหารข้นในช่วงเช้าเวลา 08.00 น.และช่วงบ่ายเวลา 16.30 น. ทุกวันตลอดการทดลอง ให้ฟางหมักยูเรียเป็นแหล่งอาหารหยาบ ให้กินแบบเต็มที่ (ab libitum)

	ซ้ำที่ 1				ซ้ำที่ 2				ซ้ำที่ 3			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
P1	T1	T2	T3	T4	T2	T3	T4	T1	T3	T4	T1	T2
P2	T2	T3	T4	T1	T3	T2	T1	T4	T4	T1	T2	T3
P3	T3	T4	T1	T2	T4	T1	T2	T3	T1	T2	T3	T4
P4	T4	T1	T2	T3	T1	T4	T3	T2	T2	T3	T4	T1

P = period, T = treatment

ภาพที่ 3.1 แผนผังงานทดลอง

ปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้ง

ทำการวัดปริมาณการกินได้ทุกวันตลอดการทดลอง โดยสุ่มเก็บอาหารก่อนกินและหลังกิน 10% เป็นเวลา 5 วันเมื่อครบ 5 วัน ของแต่ละช่วงการทดลองนำมารวมกัน และทำการสุ่มตัวอย่างอาหาร ก่อนกินและหลังกิน เพื่อนำไปบดเพื่อนำมาวิเคราะห์ส่วนประกอบโภชนะในอาหาร ได้แก่ วัตถุแห้ง, เถ้า, เยื่อใยหยาบ และโปรตีนตามวิธีการ AOAC (1990) อีกทั้งวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีเยื่อใย ได้แก่ neutral detergent fiber (NDF) และ acid detergent fiber (ADF) ตามวิธีการ Goering and Van Soest (1970)

ตารางที่ 2.1 ส่วนประกอบของสูตรอาหารและคุณค่าอาหาร

วัตถุดิบ	LP		HP	
	LE	HE	LE	HE
กากมันสำปะหลัง	79.0	85.6	77.2	76.1
กากถั่วเหลือง	6.3	8.0	9.0	18.0
กากน้ำตาล	10.0	2.0	9.0	2.3
ยูเรีย	2.7	2.4	2.8	1.6
เกลือ	1.0	1.0	1.0	1.0
พรีมิกซ์	1.0	1.0	1.0	1.0
รวม	100.0	100.0	100.0	100.0
คุณค่าอาหารจากการคำนวณ				
โปรตีน (%)	13.5	13.1	15.0	15.0
โภชนะที่ย่อยได้ทั้งหมด (TDN, %)	69.9	75.3	70.3	75.4

LP= low protein(13%CP), HP =high protein(15%CP), LE =low energy(70%TDN), HE=high energy(75 %TDN) ,TDN = total digestible nutrients ในสูตรอาหารนี้คำนวณมาจากตารางที่ 3.2 กากถั่วเหลือง = 76%, กากมันสำปะหลัง = 79.0% (Kearl, 1982)

การวัดน้ำหนัก

ได้ทำการชั่งและวัดน้ำหนักแพะก่อนการทดลอง และหลังเสร็จการทดลอง ทุกช่วงเวลาในการทดลอง และคำนวณอัตราการเจริญเติบโต และใช้ประกอบการคำนวณการกินได้ (%BW และ g/kgBW$^{0.75}$)

การสุ่มเก็บของเหลวในกระเพาะหมัก (rumen fluid)

ทำการสุ่มของเหลวในกระเพาะหมักที่ช่วงระยะเวลาต่างๆ คือก่อนให้อาหาร และ เวลาที่ 3 และ 6 ชั่วโมง หลังการให้อาหาร โดยใช้เครื่อง suction ต่อสายยางสอดเข้าไปผ่านปากและหลอดอาหารไปยังกระเพาะหมักเก็บของเหลวในกระเพาะหมักประมาณ 40-60 มิลลิลิตร และวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH) ทันทีด้วยเครื่อง pH meter แบบสนาม (Mini Lab TSFET Model 101120)

สุ่มเก็บของเหลวในกระเพาะหมักเก็บมาประมาณ 25 มิลิลิตร เติมกรดไฮโดรคลอริค (6N) ประมาณ 2.5 มิลิลิตร (ในอัตราส่วน rumen fluid 10 ส่วน ต่อ 6N HCl 1 ส่วน) เพื่อเก็บรักษาและหยุดชะงักกิจกรรมและการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ก่อนนำไปปั่นเหวี่ยง (centrifuge) จนใสด้วยความเร็ว 3,000 รอบ/นาที นาน 15 นาที เก็บเอาส่วนใส (supernatant) ไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20^{0}C เพื่อเตรียมไว้สำหรับวิเคราะห์หากรดไขมันระเหยได้ (volatile fatty acid; VFAs) โดยใช้เครื่อง gas chromatography (GC) รุ่น (HP 6890 GC METHOD) column Supelco wax ^{TM} 10 Fused silica capillary Column 30 n, 32 mm ID, 25 μm film thickness Mfg. under HP U.S. patent 4, 293, 415 และ วิเคราะห์หาแอมโมเนียไนโตรเจน (ammonia-nitrogen, NH_3-N) ของของเหลวจากกระเพาะหมัก โดยวิธีการกลั่นด้วยเครื่อง Distillation Unit ยี่ห้อ Gerhardt รุ่น Vapodest 30 ตามวิธีการของ Bromner and Keeney (1965)

การเก็บตัวอย่างเลือดวิเคราะห์ ยูเรีย-ไนโตรเจน ในกระแสเลือด (blood urea nitrogen, BUN)

ในระหว่างการทดลองจะมีการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อนำมาวิเคราะห์ยูเรียในเลือด โดยทำการเก็บตัวอย่างเลือดแพะทั้งหมด 12 ตัว ทำการเจาะเลือดก่อนให้อาหารที่เวลา 3 และ 6 ชั่วโมง หลังการให้อาหาร บริเวณเส้นเลือดดำที่บริเวณคอ (jugular vein) ปริมาตร 3 มิลิลิตร ต่อวัน โดยใช้เข็มเบอร์ 18 ความยาว 1.5 นิ้ว โดยเก็บตัวอย่างเลือดในหลอดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดสำเร็จรูป เก็บใส่กระติกน้ำแข็ง จากนั้นนำเลือดมาปั่นเหวียงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 1,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บตัวอย่างด้านบนที่ใสลงใน micro tube แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20^{0}C เพื่อทำการวิเคราะห์ blood urea nitrogen (BUN) ตามวิธีการของ Helmut and Lapointe (1959)

การเก็บรวบรวมตัวอย่างปัสสาวะ (collection of urine)

ทำการเก็บในช่วงที่แพะอยู่บนกรงเมแทบอลิซึม โดยการเก็บและวัดปริมาณทั้งหมดที่ได้ติดต่อกัน 5 วัน ในช่วงสุดท้ายของการเก็บตัวอย่าง ทำการเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 10% (10% H_2SO_4) ประมาณ 80-100 มิลลิลิตร เพื่อปรับ pH ของปัสสาวะที่มีค่าอยู่ระหว่าง 2-3 ทั้งนี้เพื่อหยุดกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่จะเข้าไปย่อยสลายไนโตรเจนในปัสสาวะ สุ่มเก็บไว้ประมาณ 10% ของปัสสาวะทั้งหมด เพื่อนำไปรวมกับวันที่ 2, 3, 4 และ 5 แล้วทำการสุ่มอีกครั้งประมาณ 5% แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อ 15 นาที เก็บเฉพาะส่วนใส เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนในปัสสาวะตามวิธีการของ (AOAC, 1990) วิเคราะห์หาความสมดุลไนโตรเจน (nitrogen balance)

การเก็บรวบรวมมูล (collection of feces)

ชั่งและบันทึกข้อมูลจากมูลที่เก็บได้ในแต่ละวัน แบ่งมูลออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกนำมาอบที่อุณหภูมิ 60^{0}C นาน 24-48 ชั่วโมง จนน้ำหนักคงที่ สุ่มตัวอย่างประมาณ 5% ไปบด เพื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี ของอาหารและมูลตามวัตถุประสงค์ของการทดลองได้แก่ วัตถุแห้งเถ้า และโปรตีน (AOAC, 1970) ส่วน NDF และ ADF วิเคราะห์ตามวิธีของ Goering and Van Soest (1970)

การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลทั้งหมดที่ได้จากการทดลองถูกนำเข้าประมวลผล และวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance; ANOVA) ตามแผนการทดลอง แบบ 4x4 Latin square with 3 replication design) โดยใช้ Proc GLM (SAS, 1998) และใช้วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี F-test เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ตามวิธีของ Steel and Torrie (1980)

การทดลองที่2 การป้องกันการย่อยได้ของโปรตีนจากกากปาล์มโดยการอบด้วยความร้อน ศึกษาการย่อยได้ในกระเพาะหมักโดยใช้เทคนิค in sacco

ใช้โคนมพันธุ์ Holstein-Friesian จำนวน 3 ตัว น้ำหนักเฉลีย 350±10.0 กก. โคนมเจาะกระเพาะสมบูรณ์ ผ่านการฉีดวัคซีนป้องกันโรคที่สำคัญ ผ่านการถ่ายพยาธิภายนอกและภายใน

การทดลองที่ 2 จัดการทดลองแบบสุมอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD)

การจัดกลุ่มทดลองของวัตถุดิบ (กากปาล์ม) แบ่งเป็น 3 กลุ่มทดลอง

กลุ่มควบคุม (กากปาล์มไม่อบ)

กลุ่มที่ 2 กากปาล์มอบ 60^{0}C นาน 60 นาที

กลุ่มที่ 3 กากปาล์มอบ 100^{0}C นาน 60 นาที

โคทุกตัวถูกขังเข้าแยกคอกเดี่ยว มีรางอาหารและภาชนะสำหรับใส่น้ำให้กินตลอดเวลา ทำการปรับสัตว์ให้คุ้นเคยกับสภาพคอกขังเดี่ยวและอาหารนาน 14 วัน จัดสัตว์เข้าทดลองตามแผนการทดลองและให้อาหารตามกลุ่มการทดลอง

ทำการบดตัวอย่าง (กากปาล์มที่ไม่ได้อบ กากปาล์ม อบที่อุณหภูมิ 60 และ 100^{0}C เป็นเวลา 60 นาที) บดด้วยเครื่องบดอาหารผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร

ใช้ถุงไนล่อน จำนวน 36 ถุง ต่อ โค 1 ตัวโดยใช้ถุงในล่อนขนาด 6X12 cm มีขนาดรู 47 µm ทำการอบแห้งถุงไนล่อน ทำการชั่งน้ำหนักถุงและตัวอย่างประมาณ 5 กรัม ลงในถุง จดบันทึก เมื่อชั่งเสร็จแล้วมัดปากถุงด้วยยางให้เรียบร้อย โดยใช้วิธีผูกแบบมาตรฐานรวมถุงให้เป็นพวง ส่วนวิเคราะห์ที่เวลา 0 ชั่วโมง นำถุงล้างน้ำ เพื่อวิเคราะห์หาความสามารถในการย่อยสลายของอาหาร การนำอาหารเข้าบ่มก่อนให้อาหารเช้า ในระหว่างการนำถุงในล่อนเข้าบ่มในรูเมน ตำแหน่งถุงอยู่ในชั้นที่เป็นของเหลว (liquid)

นำถุงใส่ไนล่อนที่เตรียมไว้ใส่ไปในกระเพาะหมัก การบ่มหมักในกระเพาะหมักใช้เวลานาน 48 ชั่วโมง การนำถุงออกจากการบ่มที่เวลา 0, 2, 4, 6, 12, 16, 24 และ 48 ชั่วโมง โดยจะนำถุงออกเมื่อครบเวลาในแต่ละช่วง หลังจากที่นำถุงออกจากกระเพาะหมักแล้ว นำไปล้างเอาเศษอาหารที่ติดมากับถุงออกให้หมดล้างถุงให้สะอาด (จนกระทั่งน้ำมีลักษณะใส) นำถุงไปอบที่ตู้อบ (incubator) โดยใช้อุณหภูมิที่ 60^{0}C จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ บันทึกน้ำหนักรวมของอาหารที่เหลือและถุงไนล่อน นำตัวอย่างหาค่าการย่อยสลายของโปรตีน (AOAC, 1990)

การคำนวณความสามารถในการย่อยสลาย (degradability) นำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาโปรตีนจากการคำนวณปริมาณน้ำหนักหรือโภชนะที่สูญหาย (degradability หรือ loss) จากสมการ Degradability, % = 100 – (ปริมาณโภชนะที่เหลือในถุงหลังบ่ม) / (ปริมาณโภชนะทั้งหมดก่อนบ่ม) ตัวอย่างเช่น

DM loss, % = 100 – ((residual DM in bag) x 100 / (Original DM in bag t_{0hr}))

CP loss, % = 100 – ((residual CP in bag) x 100 / (Original CP in bag t_{0hr}))

เมื่อได้ค่าความสามารถในการย่อยสลายแล้ว ก็สามารถนำผลไปแปลความหมายหรืออธิบายผลที่ได้จากการศึกษาโดยใช้เทคนิคใช้ถุงไนล่อนต่อไปได้จากสมการของ Ørskov and McDonald (1979)

$$P = a + b\,(1-e^{-ct})$$

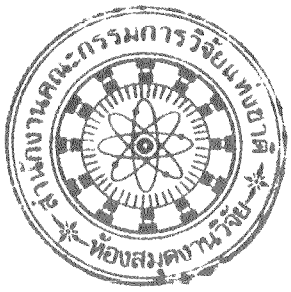
โดย p = ปริมาณที่ถูกย่อยสลาย ณ ที่เวลา t

A = ปริมาณอาหารที่ละลายในน้ำ

B = ปริมาณอาหารส่วนที่ไม่ละลายในน้ำ แต่สามารถถูกย่อยสลายได้ในช่วงเวลา

C = อัตราการย่อยสลาย

เมื่อคำนวณได้ค่า dg แล้วสามารถนำไปประมาณค่าโปรตีนที่ย่อยสลายในกระเพาะหมัก (undegradable protein, RDP) และโปรตีนที่ไม่ย่อยสลายในกระเพาะหมัก (undegradable protein, UDP) เพื่อนำไปใช้คำนวณความต้องการโปรตีนต่อไป



สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 21 ก.พ. 2555
เลขทะเบียน 244220

การทดลองที่ 3 ผลของระดับโปรตีนที่ไม่ถูกย่อยในกระเพาะหมักต่อความสามารถในการย่อยได้ในกระเพาะหมัก, ปริมาณการกินได้ และการเจริญเติบโตของแพะเนื้อโดยใช้ฟางหมักยูเรียเป็นแหล่งอาหารหยาบ

ใช้แพะเนื้อพันธุ์ลูกผสม พื้นเมืองและแองโกล-นูเบียนที่ระดับ 50-75% เพศผู้ อายุเริ่มต้น 7-8 เดือน จำนวน 24 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 17±3.0 กิโลกรัม

จัดการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design, RCBD) โดยใช้น้ำหนักเป็นเกณฑ์ในการจัดกลุ่ม แบ่งแพะออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ตัว

แบ่งแพะออกเป็น 4 กลุ่ม ตาม Treatment

กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม ได้รับอาหารสูตร 0% ruminally undegradable protein (RUP) ของโปรตีน ทั้งหมด

กลุ่มที่ 2 ได้รับอาหาร 10% RUP

กลุ่มที่ 3 ได้รับอาหาร 20% RUP

กลุ่มที่ 4 ได้รับอาหาร 30% RUP

แพะทุกตัวถูกขังแยกคอกเดี่ยว มีรางอาหารและภาชนะสำหรับใส่น้ำให้กินตลอดเวลา ทำการปรับสัตว์ให้คุ้นเคยกับสภาพคอกขังเดี่ยวและอาหารนาน 14 วัน ทำการถ่ายพยาธิภายนอกและภายในด้วยยาถ่ายพยาธิ ไอโวเม็กซ์ (ivomex) อัตราการใช้ยา 1 ml ต่อน้ำหนักสัตว์ 20 กิโลกรัม และทำเครื่องหมายหน้าคอกแพะทุกตัว จัดสัตว์เข้าทดลองตามแผนการทดลอง แล้วให้อาหารตามกลุ่มการทดลองที่กำหนดไว้ ปรับระดับปริมาณอาหารทุก 1 เดือน โดยมีการบันทึกข้อมูล ตลอดระยะการทดลอง 90 วัน

การให้อาหารข้นแก่สัตว์ทดลองตามตารางที่ 5.1 โดยมีอาหาร 4 สูตร โดยแยกเป็นอาหารข้นและอาหารหยาบ โดยแพะทุกตัวจะได้รับฟางข้าวหมักยูเรีย (5% ยูเรีย) เป็นแหล่งของอาหารหยาบให้แบบเต็มที่ *(ad libitum)* ให้อาหารในช่วงเช้าเวลา 09.00 น.และช่วงบ่ายเวลา 16.30 น. ทุกวันตลอดการทดลอง โดยอาหารข้นในแต่ละกลุ่มการทดลองจะให้ปริมาณ 1.0% ของน้ำหนักตัว

ตารางที่ 2.2 แสดงชนิดและปริมาณของวัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง

วัตถุดิบ (น้ำหนักแห้ง)	อาหารทดลอง (%RUP)			
	0	**10**	**20**	**30**
กากปาล์มอบ 100°C	0.0	3.2	6.4	9.5
ยูเรีย	3.9	3.8	3.8	3.6
กากมันสำปะหลัง	86.0	82.0	79.8	75.9
กากน้ำตาล	9.1	10.0	9.0	10.0
เกลือ	0.5	0.5	0.5	0.5
พรีมิกซ์	0.5	0.5	0.5	0.5
รวม	100.0	100.0	100.0	100.0

RUP = ruminally undegradable protein

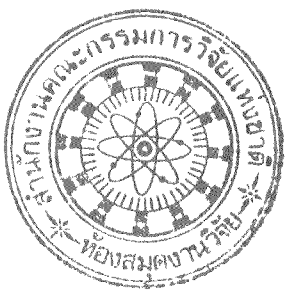
ปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้ง, การชั่งน้ำหนักตัว, การสุ่มของเหลวจากกระเพาะหมัก (rumen fluid), การเก็บตัวอย่างเลือดวิเคราะห์ ยูเรีย-ไนโตรเจน ในกระแสเลือด (blood urea nitrogen, BUN) วิธีการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

การเก็บข้อมูล

ก่อนสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์สุดท้าย ได้ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างมูลโดยทำการเก็บในช่วงเช้าหลังทำความสะอาดคอกเวลา 11.00 น. และ 13.00 น. ติดต่อกันเป็นเวลา 5 วัน จากนั้นนำมาเก็บรักษาไว้ที่ -16°C เมื่อวันสิ้นสุดการทดลองนำมูลที่เก็บได้มาผสมกัน ทำการสุ่มอีกครั้งและนำไปอบที่ 60°C เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบดที่ตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี ในมูลเช่นเดียวกับอาหารทดลอง ได้แก่ วัตถุแห้ง, เถ้า และโปรตีน ตามวิธีการของ AOAC (1990) วิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีเยื่อใย ได้แก่ NDF และ ADF ตามวิธีการของ Goering and Van Soest (1970) วิเคราะห์หาเท่าที่ไม่ละลายในกรด (acid insoluble ash, AIA) ตามวิธีการของ Van Keulen and Young (1977) เพื่อนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของอาหารตามวิธีการของ Schneider and Flatt (1975)

2.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลที่สุ่มเก็บได้จากการทดลอง ข้อมูลที่ได้ทั้งหมดจากการทดลองถูกนำเข้าประมวลผลและวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance; ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) โดนใช้ Proc. GLM (SAS, 1998) และใช้วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ โดยวิธี F-test เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ตามวิธีการของ Steel and Torrie (1980)


สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย