บทที่ 2
วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 แหล่งที่มาของข้อมูล

ปัญหาหลักของการเลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้องในเขตร้อน คือความสามารถในการย่อยอาหารได้ต่ำ รวมทั้งปริมาณการกินได้ของอาหารต่ำอันเนื่องมาจากคุณภาพของอาหารหยาบต่ำ ทำให้สัตว์ได้รับโปรตีนหรือไนโตรเจนและพลังงานไม่เพียงพอกับความต้องการทำให้มีผลกระทบต่อการให้ผลผลิตและคุณภาพของผลผลิต ดังนั้นในการเลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้องในเขตร้อนจึงมีความจำเป็นต้องมีการเสริมแหล่งอาหารโปรตีนและพลังงานเพื่อให้จุลินทรีย์ ในรูเมนได้รับสารอาหารเหล่านี้ เพื่อนำไปใช้ในกระบวนการเมทธาโบลิซึม และได้ผลผลิตสุดท้าย (end-products) ได้แก่ กรดไขมันระเหยได้ (volatile fatty acids, VFAs) รวมทั้งตัวของจุลินทรีย์เองก็เป็นแหล่งที่ดีของโปรตีน ซึ่งตัวสัตว์สามารถนำไปใช้ประโยชน์และสร้างเป็นผลผลิตต่อไป นอกจากนี้การปรับสมดุลของไนโตรเจนและพลังงานยังสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการให้ผลผลิต (Tamminga, 1996, Moss and Givens, 2002) และลดปัญหาสิ่งแวดล้อมได้ด้วย (Kebreab et al., 2002) ขณะเดียวกันการเสริมอาหารข้นแหล่งโปรตีนและพลังงาน จะต้องคำนึงถึงต้นทุนการผลิตด้วยเช่นกัน การนำวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีอยู่ในท้องถิ่น มาใช้ในการประกอบอาหารสัตว์ จึงเป็นทางออกที่ดีในการลดต้นทุนค่าอาหาร และในวัตถุดิบอาหารสัตว์บางชนิดยังมีคุณลักษณะพิเศษอื่นๆ เช่น ในกากธัญพืชจะพบโปรตีนส่วนที่เรียกว่า โปรตีนไหลผ่าน (by-pass protein) คือมีคุณสมบัติในการป้องกันการย่อยได้ของโปรตีนในรูเมน (rumen by-pass protein) และเมื่อสารประกอบดังกล่าวผ่านไปที่กระเพาะส่วนอะโบมาซัม (abomasums) และลำไส้เล็ก โปรตีนดังกล่าวจะถูกย่อยและดูดซึมไปใช้ประโยชน์ การเสริมโปรตีนไหลผ่านสามารถเพิ่มกรดอะมิโนที่สัตว์ได้รับ และยังสามารถ ลดการขับไนโตรเจนที่ออกมากับมูลและปัสสาวะ ซึ่งสามารถลดปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมได้ด้วย (Tamminga, 1996, Moss and Givens, 2002, Kebreab et al., 2002) ในการทดสอบโปรตีนไหลผ่านสามารถทดสอบโดยการนำอาหารใส่ในถุงไนลอน (nylon bag technique) เพื่อวัดการย่อยได้ในสัตว์เจาะกระเพาะ ซึ่งเป็นเทคนิคที่ควรจะนำมาใช้เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวและยังเป็นวิธีที่สามารถทดสอบโปรตีนชนิดอื่นๆ ในท้องถิ่นได้อย่างมีประสิทธิภาพ

แหล่งของอาหารที่มีโปรตีนไหลผ่านสูง ส่วนใหญ่ได้มาจากกากเมล็ดธัญพืช หรือเมล็ดพืชน้ำมันที่บีบเอาน้ำมันออก โดยระดับของโปรตีนไหลผ่านจะสูงขึ้นหากผ่านกระบวนการที่ผ่านความร้อน (Schwab, 1995) ส่วน Irshaid et al. (2003) และ Titi (2003) ได้ศึกษาการใช้กากเมล็ดทานตะวันทดแทนแหล่งอาหารคุณภาพดีคือกากถั่วเหลือง ในอาหารแพะเนื้อและแพะนม พบว่าสามารถทดแทนกันได้ทั้งหมด โดยไม่ทำให้ผลผลิตลดลงแต่อย่างใด นอกจากนี้กากเมล็ดทานตะวันยังประกอบด้วยกรดอมิโนเมทไธโอนีนที่สูงกว่ากากถั่วเหลือง (Villamide and San Juan, 1998) โปรตีนไหลผ่านยังได้

จากกากเมล็ดฝ้าย ซึ่งใช้ได้ผลดีในอาหารโคนม (Paengkoum et al., 2002) และในอาหารแพะรุ่น (Soto-Navarro et al., 2003) ส่วนกากเบียร์แห้งก็สามารถใช้เป็นแหล่งของโปรตีนไหลผ่านได้ดีในสัตว์เคี้ยวเอื้อง (Adeneye and Sunmonu, 1994; Chiou et al., 1995) เป็นต้น

มันสำปะหลังเป็นพืชที่สามารถเจริญได้ดีในเขตร้อน เป็นไม้พุ่มมีอายุค้างปี อาจสูง 2-3 เมตร ลำต้นตรง ใบมีลักษณะคล้ายฝ่ามือ มีก้านยาว มีรากซึ่งเจริญเป็นหัวลักษณะยาวใหญ่ และมีแป้งสูง ขนาดของรากขึ้นอยู่กับอายุและสภาพแวดล้อม อาจยาวถึง 40 เซนติเมตร และมีน้ำหนักกว่า 5 กิโลกรัม รากมักมีเส้นใยสูงเมื่อมีอายุมากกว่า 12 ถึง 14 เดือน โดยปกติจะเก็บเกี่ยวรากมันในขณะที่มีเส้นใยต่ำ การปลูกควรใช้ท่อนพันธุ์จากต้นยาวประมาณ 25 เซนติเมตร ควรตัดต้นถอนโคนทิ้งประมาณ 20 เซนติเมตร และตัดส่วนยอดที่มีขนาดเล็กกว่า 2.5 เซนติเมตรทิ้ง ท่อนพันธุ์จะงอกรากตรงข้อที่อยู่ใต้ และจะแตกยอดตาตรงข้อที่อยู่สูงสุด รากจะแตกแขนงได้อย่างดีและหยั่งลึกในผิวดิน หลังจาก 2-3 เดือน รากตรงบริเวณต้นจะเริ่มพองตัว และสะสมแป้งและจะเจริญขึ้นเรื่อย ๆ ในช่วงที่มีความชื้นเพียงพอสำหรับการงอกของรากและยอดในระยะเวลาอันสั้น ท่อนที่ไม่งอกอาจสังเกตได้ภายใน 3 อาทิตย์และควรปลูกซ่อมด้วยท่อนพันธุ์ใหม่ มันสำปะหลังเป็นพืชหัวที่ปลูกกันอย่างแพร่หลายเกือบทั่วทุกภาคของประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในภาคอีสาน สามารถปลูกได้ง่ายจนได้รับฉายาว่าพืชเทวดา มันสำปะหลังถือเป็นพืชเขตร้อน ถือเป็นแหล่งพลังงานและเป็นวัตถุดิบอาหารชนิดหนึ่งที่เหมาะสมกับการใช้เลี้ยงสัตว์ชนิดต่าง ๆ ได้เป็นอย่างดี โดยเฉพาะในประเทศไทยผลิตมันสำปะหลังได้มาก จนบางครั้งมีปัญหาเรื่องราคา มันสำปะหลังในประเทศไทยมีราคาถูกมาก แต่แทนที่จะถูกนำมาใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์อย่างแพร่หลายกลับถูกมองข้ามมีการใช้น้อยมาก ซึ่งมันสำปะหลังที่ปลูกส่วนมากจะถูกนำมาทำแป้งมันสำปะหลัง และอัดเม็ดส่งขายต่างประเทศ ดังนั้นเราจึงหันมาใช้มันสำปะหลังในการผสมอาหารสัตว์ ถึงแม้ว่ามันสำปะหลังจะมีข้อด้อยคือ โปรตีนต่ำและมีกรดไฮโดรไซยานิค

มันสำปะหลังเป็นพืชที่มีการสะสมอาหารในส่วนราก โดยส่วนใหญ่จะประกอบด้วยแป้งเป็นแหล่ง คาร์โบไฮเดรทที่ย่อยได้ง่าย สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งพลังงานในอาหารสัตว์ จากการศึกษาคุณค่าทางโภชนะพบว่า แป้งมัน มันเส้น มันอัดเม็ด เปลือกมัน กากมันสำปะหลัง มีระดับของโปรตีนต่ำ แต่มีส่วนของแป้ง หรือพลังงานสูง (เมธา และคณะ, 2538) และนอกจากนี้ เมธา และฉลอง (2533) รายงานว่า จากการนำส่วนของใบมันสำปะหลังไปตากแห้ง พบว่าสามารถใช้เป็นอาหารเสริมโปรตีนสำหรับการเลี้ยงสัตว์ได้เป็นอย่างดี โดยเฉพาะการใช้ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนะต่าง ๆ ในระดับสูง โดยเฉพาะเป็นแหล่งโปรตีนเสริม มี วัตถุแห้ง (dry matter, DM) 90% และมีโภชนะต่าง ๆ เมื่อคิดเป็นวัตถุแห้ง พบว่า มีโปรตีนที่ย่อยได้ (digestible protein, DP) 18.3% โภชนะที่ย่อยได้ทั้งหมด (total digestible nutrient, TDN) 56% โปรตีนหยาบ (crude protein, CP) 24.7%

ether extract (EE) 5.9% เยื่อใยหยาบ (crude fiber, CF) 17.3% โภชนะที่ไม่ใช่ไนโตรเจน (nitrogen free extract, NFE) 44.2% เถ้า (Ash) 7.9% แคลเซียม (calcium, Ca) 1.5% ฟอสฟอรัส (phosphorus, P) 0.4% เยื่อใย NDF (neutral detergent fiber) 29.6% และ เยื่อใย ADF (acid detergent fiber) 24.1% และนอกจากนี้ Wanapat et al. (2000) ศึกษาวิจัยโดยทำการเก็บมันทั้งต้น โดยหักเหนือจากพื้น 15-30 cm ที่อายุประมาณ 3 เดือน นำมาตากแห้งเพื่อผลิตมันเฮย์ (cassava hay, CH) พบว่ามีคุณค่าทางโภชนะสูง และเมื่อเปรียบเทียบกับ alfalfa hay และกากถั่วเหลือง (soybean meal) พบว่ามีส่วนประกอบของกรดอะมิโนในปริมาณที่สูงกว่า โดยเฉพาะอย่างยิ่ง methionine (Met) isoleucine (Ile) และ lysine (Lys)

พืชโปรตีนอาหารสัตว์ (protein foliage) หลายชนิดเป็นพืชที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อน และสามารถนำมาใช้ในการเลี้ยงแพะ โดยพืชเหล่านี้อาจจะเป็นพืชเศรษฐกิจหรือพืชที่ขึ้นตามธรรมชาติ ได้แก่พืชยืนต้น ไม้พุ่ม พืชล้มลุก พืชเลื้อย รวมไปถึงถั่วต่างๆ หลายชนิดของพืชเหล่านี้ประกอบด้วยโปรตีนในระดับสูงและสามารถนำมาเสริมในอาหารสัตว์เคี้ยวเอื้อง และพืชหลายชนิดประกอบด้วยโปรตีนที่มีคุณภาพสูงสามารถไหลผ่านรูเมนได้ (rumen by-pass protein) ทั้งนี้เพราะมีสารประกอบแทนนิน-โปรตีน (tannin-protein complex) ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อสัตว์เคี้ยวเอื้อง นอกจากนั้นยังมีแร่ธาตุที่สำคัญอยู่สูงด้วย เช่น Ca, P, Mg, K และ ไวตามินต่างๆ เป็นต้น Reed (1995) และ Makkar (2000) รายงานว่าถ้ามี tannin ในพืชอาหารสัตว์ต่ำกว่า 2-4% จะเป็นประโยชน์ต่อสัตว์เคี้ยวเอื้อง ซึ่งมีพืชอาหารสัตว์หลายชนิดที่มี tannins อยู่ในระดับดังกล่าวหากมีการจัดการที่ดี เช่น จากมันเฮย์ (Wanapat, 2001, 2002) หรือจากพืชอาหารสัตว์อื่นๆ เช่น กระถิน ปอ (Paengkoum et al., 2003) อย่างไรก็ตามการใช้ประโยชน์ของพืชโปรตีนอาหารสัตว์จะถูกจำกัดโดยการที่มีระดับคอนเดนส์แทนนินส์ (condensed tannins) สูงเกินไป (>6% DM) (Reed et al., 1982; Barry and Manley 1984) นอกจากนี้ Wanapat et al. (2001) และ Makkar et al. (1995) พบว่า condensed tannins สามารถเพิ่มการผลิตจุลินทรีย์โปรตีนได้สูงขึ้น แต่กลไกที่เกิดขึ้นยังไม่ทราบเป็นที่แน่นอน ดังนั้นการนำพืชเหล่านี้มาใช้จึงต้องมีการศึกษาอย่างละเอียด ในพืชแต่ละชนิดไป

ในทางโภชนศาสตร์สัตว์ ก็ได้มีการพัฒนาอาหารสัตว์เพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของผลผลิต ขณะเดียวกันก็ต้องคำนึงถึงต้นทุนการผลิตเช่นเดียวกัน การนำวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีอยู่ในท้องถิ่นมาใช้ในการประกอบอาหารสัตว์จึงเป็นทางออกที่ดีในการลดต้นทุนค่าอาหาร และในวัตถุดิบอาหารสัตว์บางชนิดยังมีคุณลักษณะพิเศษอื่นๆ เช่น สารประกอบปลีกย่อย (Secondary compounds) เช่น แทนนิน ซึ่งสารประกอบเหล่านี้ส่วนใหญ่จะมีผลเชิงลบต่อสัตว์กระเพาะเดี่ยว คือต่อต้านการย่อยได้หรือการดูดซึมโภชนะไปใช้ประโยชน์ของสัตว์ แต่ในสัตว์เคี้ยวเอื้องกลับพบว่ามีผลในเชิงบวก คือสามารถป้องกันการย่อยได้ของโปรตีนในรูเมน (rumen by-pass protein) และเมื่อสารประกอบดังกล่าวผ่านไปที่กระเพาะส่วนอะโบมาซัม (abomasums) และลำไส้เล็ก สารประกอบแทนนิน-

โปรตีน จะแตกตัวส่วนที่เป็นโปรตีนถูกย่อยและดูดซึมไปใช้ประโยชน์ส่วนแทนนินจะถูกขับถ่ายออกนอกร่างกาย (Jones and Morgan, 1977)

การนำพืชอาหารสัตว์ในท้องถิ่นและผลพลอยได้มาใช้ในการเลี้ยงสัตว์ สามารถลดต้นทุนการผลิตได้โดยใช้ทดแทนวัตถุดิบอาหารแหล่งพลังงานที่มีราคาแพงกว่า เช่นข้าวโพด ปลายข้าว หรือพลังงานจากแหล่งอื่น การนำมาใช้อย่างถูกต้องยังสามารถทำให้สัตว์มีสุขภาพดีขึ้น โดยไม่มีความจำเป็นต้องใช้สารปฏิชีวนะ เป็นการผลิตอาหารสัตว์ที่ปลอดภัยซึ่งเป็นนโยบายที่รัฐบาลให้การสนับสนุนเพื่อผู้บริโภคปลอดภัยและส่งขายไปยังต่างประเทศได้

2.2 วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล

2.2.1 การศึกษาการใช้ประโยชน์ของพืชอาหารสัตว์และผลิตภัณฑ์ ต่อการย่อยได้และกระบวนการหมัก

ใช้แพะเนื้อเจาะกระเพาะแบบถาวร (permanent rumen fistulae) จำนวน 4 ตัว โดยได้ผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลอง โดยเลี้ยงในคอกขังเดี่ยว ปรับอาหารด้วยพื้นฐานอาหารหยาบด้วยข้าวโพดหมัก เป็นเวลา 2 สัปดาห์ แพะทุกตัวได้รับการเสริมมันเส้นเป็นแหล่งพลังงานหลัก โดยอาหารที่จะใช้ทดสอบได้แก่

กลุ่มที่ 1 พืชทนน้ำ เช่น

- ธูปฤาษี
- ปอ

กลุ่มที่ 2 พืชทนแล้ง เช่น

- มันสำปะหลัง (ใบและยอด)
- ไมยรา
- พืชตระกูลถั่ว (เลือกอย่างน้อย 1 ชนิด เช่น ถั่วเขียว ถั่วคาวาเคพ หรือถั่วสไตโล)

วัดความสามารถในการย่อยได้ในรูเมน โดยใช้เทคนิคการย่อยได้ในถุงในล่อน(nylon bag technique) โดยบ่มในรูเมนที่ชั่วโมงที่ 0, 2, 4, 6,12, 16, 24, 48 และ 72 ตามลำดับ ตามวิธีการของ Ørskov and McDonald (1979) และนำมาคำนวณโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Curvfit (Chen, 1996)(GC)

ผลการทดลองที่ได้ทั้งหมดไปวิเคราะห์ทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test โดยใช้ Proc. GLM (SAS,1989)

2.2.2 ศึกษาผลของการทดแทนอาหารหยาบด้วยถั่วคาวาลเคด โดยการเปรียบเทียบกันระหว่างถั่วคาวาลเคดหมักและคาวาลเคดแห้ง

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

แพะพันธุ์ แองโกลนูเบี้ยน×พื้นเมือง อายุเฉลี่ย ประมาณ 7-9 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย ประมาณ 14±2 กิโลกรัม เพศผู้ 4 ตัว เพศเมีย 4 ตัว รวมทั้งหมด 8 ตัว

การทดลอง

ทำการศึกษาโดยการทดลองแบบ Double 4x4 Latin square design โดยมีอาหารทดลอง (Dietary treatment) ที่แตกต่างกัน 4 ทรีทเม้นต์

(T_1) อาหารทดลองแบบที่ 1 หญ้าแพงโกล่าแห้ง

(T_2) อาหารทดลองแบบที่ 2 หญ้าแพงโกล่าแห้ง : อาหารข้น (ประมาณ 14%CP)

(T_3) อาหารทดลองแบบที่ 3 หญ้าแพงโกล่าแห้ง : ถั่วคาวาลเคดแห้ง (ประมาณ 14%CP)

(T_4) อาหารทดลองแบบที่ 4 หญ้าแพงโกล่าแห้ง : ถั่วคาวาลเคดหมัก (ประมาณ 14%CP)

แพะทุกกลุ่มได้รับหญ้าแพงโกล่าแห้งเป็นแหล่งอาหารหยาบ โดยให้กินแบบเต็มที่ ad libitum

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

ภาพที่ 2.1 แผนผังงานทดลอง P = period, T = treatment

การจัดการสัตว์ทดลอง

ระยะก่อนทดลอง (preliminary period) ขังแพะในคอกเดี่ยวที่มีรางอาหารเพียงพอ ให้แพะทุกตัวได้รับหญ้าแพงโกล่า : อาหารข้น = 50:50 หรือให้อาหารข้นเสริมในปริมาณ 200-500 กรัมต่อวัน ในช่วงนี้ทำการถ่ายพยาธิ ฉีดวัคซีนและวิตามิน AD_3E จัดสัตว์เข้าทดลองตามแผนการทดลอง แล้วให้ตามทรีทเมนต์ที่กำหนดไว้ โดยขังแพะ แยกขังเดี่ยว ระยะปรับสัตว์ (adjusting period) ทำการปรับสัตว์ให้คุ้นเคยกับสภาพคอกขังเดี่ยวและอาหารนาน 14 วัน ในช่วงนี้แพะทุกตัวได้รับอาหารในกลุ่มควบคุม (control) ระยะทำการทดลอง (experimental period) แพะทุกตัวได้รับอาหารที่กำหนดตามทรีทเมนต์ที่ปรับระดับของปริมาณอาหารทุก 2 สัปดาห์ โดยปรับตามน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นในแต่ละ

ช่วงการทดลอง ทำการเก็บข้อมูลต่าง ๆ คือ ปริมาณอาหารที่กินได้ต่อวัน และทำการเก็บตัวอย่างเลือด ของเหลวจากกระเพาะหมัก,ปัสสาวะและมูลช่วงสัปดาห์สุดท้ายของแต่ละการทดลอง

การเก็บข้อมูล

การเก็บตัวอย่างอาหาร สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารหยาบ และอาหารข้น เพื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี คือ วัตถุแห้ง Dry matter (DM), โปรตีนหยาบ (CP) ตามวิธีมาตรฐาน AOAC (1985) และหา neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF) ตามวิธีการของ Van Soest et al. (1991) บันทึกปริมาณการกินอาหารที่แพะกินทุกวัน ตรวจวัดปริมาณการกินได้อาหารหยาบและอาหารข้นที่เหลือต่อวันก่อนให้อาหารเข้า โดยการนำอาหารทั้งหมดที่เหลือมาชั่งน้ำหนักให้อาหาร 2 ครั้ง ช่วงเช้าเวลา 7.00 น. และช่วงบ่าย เวลา 16.00 น. บันทึกการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวของแพะทำการชั่งน้ำหนัก เป็นประจำทุก 1 สัปดาห์ในตอนเช้าก่อนให้อาหาร ปริมาณการกินได้ต่อน้ำหนักตัวและประสิทธิภาพการใช้อาหารต่อน้ำหนักตัว เก็บตัวอย่างเลือดสัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง ณ. เวลา 0,3,6 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร เพื่อทำการตรวจหาปริมาณยูเรีย การวัดและสุ่มเก็บของเหลวจากการเพาะหมัก (rumen fluid) สุ่มเก็บของเหลวจากกระเพาะหมักของแพะแต่ละตัวในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง โดยจะกระทำ ณ ชั่วโมงที่ 0,3,6 หลังจากการให้อาหารเช้า หลังจากนั้นจะนำไปวิเคราะห์หาแอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3-N) โดยวิธีการกลั่น (Bromner and Keeney, 1965) กรดไขมันที่ระเหยง่าย

การเก็บมูลและปัสสาวะ

เก็บตัวอย่างมูลสัตว์และปัสสาวะทำการเก็บมูลแบบ total collection เพื่อคำนวณหาความสามารถในการย่อยได้ทั้งหมด สัปดาห์สุดท้ายของการทดลองและวัดน้ำหนักมูลที่ขับออกนานติดต่อกัน 5-7 วันมีถาดรองรับมูลวางอยู่ใต้กรงเมทาบอลิซึม ทำการชั่งมูลทั้งหมดในถาดรองรับใต้กรงเมแทบอลิซึมจากแพะทุกตัวทุกวัน ทำการผสมคลุกเคล้ามูลในถาดรองรับให้ผสมกันและทำการสุ่มเก็บมูล 10 เปอร์เซ็นต์ของที่ถ่าย ในแพะแต่ละตัว แบ่งมูลออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกเก็บมา 5 เปอร์เซ็นต์ นำไปอบที่ 100 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เพื่อไปคำนวณหาวัตถุแห้ง ส่วนที่สอง สุ่มเก็บ 5 เปอร์เซ็นต์ นำไปอบที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วนำไปบดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร วิธีการนี้สัตว์ทดลองทั้งหมดจะต้องเลี้ยงในคอกหรือกรงทดลอง (metabolism crate) เพื่อที่จะสามารถวัดปริมาณการกินได้ เก็บมูลและปัสสาวะที่ขับออกมาได้ทั้งหมด สำหรับการคำนวณค่าการย่อยได้ของอาหารนั้น ปริมาณที่กินและมูลที่ขับออกมาจะต้องปรับให้เป็นปริมาณแห้งเสียก่อนแล้วจึงนำมาคำนวณดังนี้

$$\text{การย่อยได้ของวัตถุแห้ง (\%)} = 100 \times \frac{\text{(วัตถุแห้ง)โภชนะในอาหาร} - \text{(วัตถุแห้ง)โภชนะในมูล}}{\text{(วัตถุแห้ง) โภชนะในอาหาร}}$$

การวัดการย่อยได้ของอาหารของอาหารโดยวิธีนี้เป็นวิธีที่ได้รับการยอมรับ ซึ่งรายละเอียดของวิธีการนี้ที่อธิบายไว้อย่างละเอียด คือ Schnieder and Flatt (1975) ทำการสุ่มเก็บปัสสาวะสัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง โดยทำการเก็บในช่วงเช้าก่อนให้อาหารเช้า เก็บปัสสาวะโดยการใช้ถังพลาสติกทนกรดรองรับปัสสาวะที่แพะถ่ายออกมาในถังพลาสติกเข้มข้นเติมกรดซัลฟูริก จำนวน 80 มิลลิลิตร เพื่อป้องกันการระเหยของไนโตรเจน แล้วนำไปเก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส เมื่อสิ้นสุดการทดลองนำปัสสาวะที่เก็บมาได้คลุกเคล้าให้เข้ากันและสุ่มไว้ประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ นำไปวิเคราะห์หาไนโตรเจน เพื่อคำนวณความสมดุลไนโตรเจน

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ผลทางสถิติโดย Analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละทรีทเมนต์ด้วยวิธี Duncan's New multiple Range Test โดยการใช้โปรแกรม SAS (1996)

แบบจำลอง : สำหรับการวิเคราะห์แผนการทดลองแบบจัตุรัสละตินที่มีการวัดซ้ำ

$$Y_{ijkl} = \mu + \rho_i + \gamma_l + \alpha_j + \delta_{ik} + \tau_k + \alpha\tau_k + \phi_{ijk}$$

เมื่อ

Y_{ijkl} = ค่าสังเกตจากปัจจัยทดลองที่ระดับ j และเวลาที่ k แถวที่ I, คอลัมน์ ที่ l เมื่อ k = l,…., r

μ = ค่าเฉลี่ยรวมของค่าสังเกต

ρ_i = อิทธิพลเนื่องจากแถว เมื่อ i = 1, 2, 3 และ4

γ_l = อิทธิพลเนื่องจากสดมภ์ เมื่อ l = 1, 2, 3 และ4

α_j = อิทธิพลเนื่องจากทรีทเมนต์ที่ระดับ j เมื่อ l = 1, 2, 3 และ4

δ_{ik} = อิทธิพลเนื่องจากตัวสัตว์ที่ระดับ k เมื่อ k = 1,…,r

τ_k = อิทธิพลเนื่องจากปัจจัยเวลา ที่ระดับ k = 1,…..,r

$\alpha\tau_k$ = อิทธิพลร่วมเนื่องจากปัจจัยทรีทเมนต์ที่ระดับ j และเวลาที่ระดับ k

ϕ_{ijk} = ความคลาดเคลื่อนของงานทดลอง

สถานที่ทำการทดลองและระยะเวลาในการทำการทดลอง

ฟาร์มมหาวิทยาลัย อาคารศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 3 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร ใช้ระยะเวลาในการทดลองตั้งแต่ เดือนกรกฎาคม-เดือนกันยายน 2550 ปรับสัตว์ 14 วัน รวมระยะเวลา 98 วัน

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 20 ส.ค. 2554
เลขทะเบียน 242866
เลขเรียกหนังสือ

2.2.3 ศึกษาผลของการทดแทนโปรตีนหยาบทั้งหมดในสูตรอาหารข้น ด้วย ถั่วคาวาลเคดแห้ง ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

แพะลูกผสมพันธุ์แองโกลนูเบี้ยน×พื้นเมือง อายุเฉลี่ย ประมาณ 7-9 เดือน น้ำหนักประมาณ กลุ่มที่หนึ่ง 19±4 กิโลกรัม กลุ่มที่สอง 9±4 กิโลกรัม เพศผู้ 18 ตัว

การทดลอง

ทำการศึกษาโดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design ใช้น้ำหนักแพะเป็น block ปัจจัยที่ต้องการศึกษา คือ ศึกษาผลของการทดแทนโปรตีนในสูตร อาหารข้น ที่ระดับ 25 และ50 % โดยมีอาหารทดลอง (Dietary treatment) ที่แตกต่างกัน 3 ทรีทเม้นต์

(T_1) อาหารทดลองแบบที่ 1 หญ้าแพงโกล่าแห้ง + อาหารข้น (14%CP)

(T_2) อาหารทดลองแบบที่ 2 หญ้าแพงโกล่าแห้ง + คาวาลเคดแห้ง (ที่ระดับ 25%) จากกากถั่วเหลืองในสูตรอาหารข้น

(T_3) อาหารทดลองแบบที่ 3 หญ้าแพงโกล่าแห้ง + คาวาลเคดแห้ง (ที่ระดับ 50%) จากกากถั่วเหลืองในสูตรอาหารข้น

การจัดการสัตว์ทดลอง

ระยะก่อนทดลอง (preliminary period) ขังแพะในคอกรวมที่มีรางอาหารเพียงพอ ให้แพะทุกตัวได้รับหญ้าแพงโกล่า : อาหารข้น = 50:50 หรือให้อาหารข้นเสริมในปริมาณ 200-300กรัมต่อวัน ในช่วงนี้ทำการถ่ายพยาธิ ฉีดวัคซีนและวิตามิน AD_3E จัดสัตว์เข้าทดลองตามแผนการทดลอง แล้วให้ตามทรีทเมนต์ที่กำหนดไว้ โดยขังแพะ แยกขังเดี่ยว ระยะปรับสัตว์ (adjusting period) ทำการปรับสัตว์ให้คุ้นเคยกับสภาพคอกขังเดี่ยวและอาหารนาน 14 วัน ในช่วงนี้แพะทุกตัวได้รับอาหารในกลุ่มควบคุม (control) ระยะทำการทดลอง (experimental period) แพะทุกตัวได้รับอาหารที่กำหนดตามทรีทเมนต์ โดยปรับตามน้ำหนักตัว ทำการเก็บข้อมูลต่าง ๆ คือ ปริมาณอาหารที่กินได้ต่อวัน การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัว และทำการเก็บตัวอย่างเลือด ของเหลวจากกระเพาะหมัก,ปัสสาวะและมูลช่วงสัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง

อาหารที่ใช้ในการทดลอง

การให้อาหารข้นตามสูตรแก่สัตว์ทดลองดังตารางที่ 5.1 โดยมีอาหาร 3 สูตร โดยแยกเป็นอาหารข้น และอาหารหยาบโดยแพะทุกตัวจะได้รับหญ้าแพงโกล่าแห้งให้แบบเต็มที่ (*ab libtum*) ให้อาหารในช่วงเช้า 8.00 น. และ 16.30 น. ของทุกวัน โดยอาหารข้นในกลุ่มทดลองจะให้ปริมาณ 1.0% ของน้ำหนักตัว

ตารางที่ 2.1 วัตถุดิบของสูตรอาหารที่ใช้ถั่วคาวาลเคดทดแทนกากถั่วเหลืองโปรตีน 14 เปอร์เซ็นต์

วัตถุดิบ, % วัตถุแห้ง	0:100	25:75	50:50
ถั่วคาวาลเคดแห้ง	0	10	19.8
กากมันสำปะหลัง	53.5	46.15	39.0
รำละเอียด	12.0	12.00	12.0
กากถั่วเหลือง	15.0	12.50	10.0
กากปาล์ม	10.0	10.00	10.0
กากน้ำตาล	6	6	6
ยูเรีย	1.3	1.15	1.0
กำมะถัน	0.2	0.20	0.2
ปูนขาว	0.5	0.50	0.5
เกลือ	0.5	0.50	0.5
Premixed	1.0	1.0	1.0
รวม	100	100	100

การเก็บข้อมูล

การเก็บตัวอย่างอาหาร สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารหยาบ และอาหารข้น เพื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี คือ วัตถุแห้ง Dry matter(DM), เถ้า (Ash), โปรตีนหยาบ (CP) ตามวิธีมาตรฐาน AOAC (1985) และหา neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), acid detergent lignin (ADL) ตามวิธีการของ Van Soest et al. (1991) บันทึกปริมาณการกินอาหารที่แพะกินทุกวัน ตรวจวัดปริมาณการกินได้อาหารหยาบและอาหารข้นที่เหลือต่อวันก่อนให้อาหารเข้า โดยการนำอาหารทั้งหมดที่เหลือมาชั่งน้ำหนัก ให้อาหาร 2 ครั้ง ช่วงเช้าเวลา 7.00 น. และช่วงบ่าย เวลา 16.00 น. บันทึกการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวของแพะทำการชั่งน้ำหนัก เป็นประจำทุก สัปดาห์ในตอนเช้าก่อนให้อาหาร คำนวณหาอัตราการเจริญเติบโต, ปริมาณการกินได้ต่อน้ำหนักตัวและประสิทธิภาพการใช้อาหารต่อน้ำหนักตัว เก็บตัวอย่างเลือดสัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง ณ. ที่เวลา 0,3,6 ชั่วโมงหลังการให้อาหาร เพื่อทำการตรวจหาปริมาณยูเรีย การวัดและสุ่มเก็บของเหลวจากการเพาะหมัก (rumen fluid) สุ่มเก็บของเหลวจากกระเพาะหมักของแพะแต่ละตัวในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง โดยจะกระทำ ณ ชั่วโมงที่ 0,3,6 หลังจากการให้อาหารเช้า หลังจากนั้นจะนำไปวิเคราะห์หาแอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3-N) โดยวิธีการกลั่น (Bromner and Keeney, 1965) กรดไขมันที่ระเหยง่าย และนับจำนวนจุลินทรีย์โดยวิธี direct count (Galyean. 1989)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ผลทางสถิติโดย Analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละทรีทเมนต์ด้วยวิธี Duncan's New multiple Range Test โดยการใช้โปรแกรม SAS (1996)

MODEL: $Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$

เมื่อ Y_{ij} = ค่าสังเกตจากทรีทเมนต์ที่ I , ซ้ำที่ j เมื่อ j=1,...,r

μ = overall mean

τI = อิทธิพลเนื่องจากทรีทเม้นต์ (trt) ที่ i เมื่อ i =1,...,r

εij = Error

2.2.4 การศึกษาผลของการทดแทนโปรตีนจากกากถั่วเหลืองด้วยกระถินป่นในสูตรอาหารข้นที่ระดับแตกต่างกัน

สัตว์ทดลอง

แพะเนื้อลูกผสมพันธุ์พื้นเมืองและแองโกลนูเบียนอายุ เฉลี่ยประมาณ 7-8 เดือน น้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 20±5.0 กิโลกรัม เพศผู้ 4 ตัว และเพศเมีย 4 ตัว รวม 8 ตัว

การทดลองที่ 1 วางแผนการทดลองแบบ Double 4x4 Latin square design โดยมีปัจจัยการทดลอง 4 ปัจจัย ทำการจัดทรีทเมนต์งานทดลองด้วยระดับการทดแทนโปรตีนจากกากถั่วเหลืองด้วยกระถินป่น ดังแสดงในตารางที่ 3.1

อาหารทดลองแบบที่ 1 (T1) = ทดแทนโปรตีนจากกากถั่วเหลืองด้วยกระถินป่นในสูตรอาหารข้นที่ระดับ 0 เปอร์เซ็นต์

อาหารทดลองแบบที่ 2 (T2) = ทดแทนโปรตีนจากกากถั่วเหลืองด้วยกระถินป่นในสูตรอาหารข้น ที่ระดับ 25 เปอร์เซ็นต์

อาหารทดลองแบบที่ 3 (T3) = ทดแทนโปรตีนจากกากถั่วเหลืองด้วยกระถินป่นในสูตรอาหารข้นที่ระดับ 50 เปอร์เซ็นต์

อาหารทดลองแบบที่ 4 (T4) = ทดแทนโปรตีนจากกากถั่วเหลืองด้วยกระถินป่นในสูตรอาหารข้นที่ระดับ 75 เปอร์เซ็นต์

การจัดการสัตว์ทดลอง

ทำการถ่ายพยาธิแพะโดยใช้ยาไอโวเม็กค์ พร้อมทั้งฉีดวิตามิน เอดี$_3$ อี ก่อนเข้างานทดลอง 1 สัปดาห์ จากนั้นสุ่มแพะแต่ละตัวในคอกขังเดี่ยว ให้อาหารแยกแต่ละตัวพร้อมน้ำสะอาดให้กิน และแบ่งการทดลองออกเป็น 4 ช่วงเวลาการทดลอง (period) ช่วงเวลา 21 วัน โดยแบ่งออกเป็นระยะเวลาการปรับสัตว์ 14 วัน นำสัตว์ขึ้นกรงเมแทบอลิซึม ปรับสัตว์บนกรงเมแทบอลิซึม 2 วัน ทำการสุ่มเก็บ

ตัวอย่างเป็นเวลา 7 วัน ในแต่ละช่วงเวลา เมื่อทดลองครบหนึ่งช่วงเวลาทดลอง แพะแต่ละตัวจะถูกเปลี่ยนไปรับสูตรอาหารอื่นโดยไม่ซ้ำกัน จนครบทั้ง 4 ช่วงเวลาการทดลอง ดังภาพที่ 3.4

อาหารที่ใช้ในการทดลอง

อาหารที่ใช้ในการทดลองจัดทำในรูปแบบของอาหารข้น (concentrate) โดยสัตว์ทุกตัวได้รับหญ้าแพงโกล่าแห้งเป็นอาหารหยาบ (roughage) อย่างเต็มที่ (*ad libitum*) มีรายละเอียดของอาหารดังตารางที่ 3.1 ในสูตรอาหารในการทดลองครั้งนี้ มีโภชนะที่สำคัญ คือ โปรตีนหยาบ 14 เปอร์เซ็นต์ จัดให้แพะทดลองได้รับอาหารทดลองในช่วง 14 วันก่อนขึ้นกรงเมแทบอลิซึมโดยให้กินอย่างเต็มที่ และในช่วง 7 วันสุดท้ายของการเก็บตัวอย่างที่ขึ้นกรงเมแทบอลิซึม ให้อาหาร 80 เปอร์เซ็นต์ของการกินได้ โดยแบ่งให้อาหาร 2 เวลา ในตอนเช้า 07.00 นาฬิกา และเวลา 17.00 นาฬิกา

ตารางที่ 2.2 วัตถุดิบและส่วนประกอบของสูตรอาหารทดลองทั้ง 4 สูตรการทดลอง

วัตถุดิบ	อาหารทดลอง			
	0 เปอร์เซ็นต์	**25 เปอร์เซ็นต์**	**50 เปอร์เซ็นต์**	**75 เปอร์เซ็นต์**
น้ำมันปาล์ม	0	0.3	0.4	0.8
กากมันสำปะหลัง	66.4	61.9	57.58	54.9
รำละเอียด	10.0	14.0	18.0	20
กากถั่วเหลือง	15.0	11.2	7.5	3.8
กระถินป่น	0	3.8	7.5	11.2
กากน้ำตาล	5.0	5.0	5.0	5.0
ยูเรีย	1.9	2.1	2.32	2.6
กำมะถัน	0.2	0.2	0.2	0.2
เกลือ	0.5	0.5	0.5	0.5
พรีมิกซ์	1.0	1.0	1.0	1.0
รวม	100.0	100.0	100.0	100.0

การเก็บข้อมูล

บันทึกปริมาณอาหารที่ให้ และที่เหลือ ในตอนเช้าและเย็นทุกวัน คำนวณปริมาณการกินได้ของวัตถุแห้งในแต่ละวัน คำนวณได้จากการกินได้วัตถุแห้งของแต่ละวัน คำนวณได้จากสมการปริมาณการกินได้ต่อวัน (วัตถุแห้ง, DM)

ปริมาณการกินได้ = [ปริมาณอาหารให้ตอนเช้า (วัตถุแห้ง)-ปริมาณอาหารเหลือตอนเช้า (วัตถุแห้ง)] + [ปริมาณอาหารให้ตอนเย็น (วัตถุแห้ง)-ปริมาณอาหารเหลือตอนเย็น (วัตถุแห้ง)]

การเก็บตัวอย่างอาหาร สุ่มเก็บตัวอย่างอาหารหยาบ และอาหารข้น เพื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี คือ วัตถุแห้ง (dry matter, DM), เถ้า (ash), โปรตีนหยาบ (crude protein, CP) และไขมัน (ether extract, EE) ตามวิธีของ AOAC (1990) วิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของเยื่อใย ได้แก่ เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกลางหรือผนังเซลล์ (neutral detergent fiber, NDF) เยื่อใยที่ไม่ละลายในสารฟอกที่เป็นกรด (acid detergent fiber, ADF) ตามวิธีการของ Goering and Van Soest (1970)

เก็บของเหลวในกระเพาะรูเมน ในตอนเช้าของวันที่ 21 ของแต่ละช่วงของการทดลอง โดยเก็บตัวอย่างของเหลวในกระเพาะรูเมน (rumen fluid) โดยใช้ stomach tube สอดลงไปยังกระเพาะโดยปกติท่อต้องเข้าอยู่บริเวณส่วนกลางของกระเพาะรูเมน (dorsal and rumen) แล้วจึงดูดของเหลวโดยใช้ vacuum pump ออกมา และทำการสุ่มเก็บน้ำรูเมน 3 ครั้ง คือ ในชั่วโมงที่ 0 (ก่อนการให้อาหาร) ชั่วโมงที่ 3 หลังจากให้อาหารในตอนเช้า และชั่วโมงที่ 6 เป็นช่วงเวลาสุดท้าย เก็บในปริมาตร 40 - 60 มิลลิลิตร วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่อง pH/temperature meter แบบสนาม (Mini Lab TSFET Model 10120) ทันทีและจดบันทึกข้อมูลที่วัดได้ จากนั้นกรองผ่านผ้าขาวบาง 4 ชั้นเก็บไว้ประมาณ 25 มิลลิลิตร แล้วหยดด้วยกรดซัลฟูริก (6 N H_2SO_4) ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร(ในอัตราส่วน rumen fluid 10 ส่วน ต่อ 6 N H_2SO_4 1 ส่วน) เพื่อหยุดปฏิกิริยาการหมักของจุลินทรีย์ แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที รินเอาของเหลวใส (supernatant) เก็บไว้ในตู้เย็นแช่แข็งอุณหภูมิ -20 °C เพื่อนำไปวิเคราะห์หาแอมโมเนีย - ไนโตรเจน (NH_3-N) ด้วยวิธีการกลั่น Bromner and Keeney (1965) และนำของเหลวอีกส่วนหนึ่งนำไปวิเคราะห์หากรดไขมันที่ระเหยได้ (volatile fatty acids VFA) กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทิริก โดยใช้เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (model RF-10AXL; Shimadzu) ตามวิธีของ Samuel, Sagathewan, Thomas and Mathen (1997) และส่วนที่ 2 นำของเหลวในกระเพาะรูเมน ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดที่บรรจุสารละลายฟอร์มาลีน (10% Formaline solution) ที่มีปริมาตร 9 มิลลิลิตรเขย่าขวดเพื่อผสมให้เข้ากัน จากนั้นจึงนำไปนับจำนวนจุลินทรีย์ต่อไปตามวิธีการของ Galyean (1989)

เก็บมูลแพะทุกตัว โดยสัตว์ทดลองอยู่บนกรงเมแทบอลิซึม และเก็บมูลทั้งหมดแต่ละวัน (total collection) แล้วทำการชั่งน้ำหนักมูลทั้งหมดของแต่ละวัน โดยสุ่มเก็บติดต่อกัน 7 วัน ในช่วงวันที่ 14 ถึง 21 ของแต่ช่วงเวลาการทดลอง และทำการคลุกเคล้ามูลให้เข้ากันและสุ่มเก็บมูล 5 เปอร์เซ็นต์ ใส่ถุงแยกเป็นรายตัว ทำการแบ่งมูลออกเป็น 2 ส่วน โดยส่วนแรกนำไปอบที่อุณหภูมิ 100

°C นาน 24 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์หาวัตถุแห้งในมูลแต่ละครั้ง ส่วนที่ 2 นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 72 ชั่วโมง แล้วนำไปบดผ่านตระแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์หาส่วนประกอบของโภชนะต่างๆ ได้แก่ DM, Ash, CP, NDF และ ADF เช่นเดียวกับการวิเคราะห์อาหารและวิเคราะห์หาการย่อยได้ตามวิธีของ Schnieder and Flatt (1975) โดยสูตรที่ใช้ในการคำนวณ คือ

$$\text{การย่อยได้ของโภชนะ(\%DM)} = \frac{\text{โภชนะในอาหาร(DM)} - \text{โภชนะในมูล (DM)}}{\text{โภชนะในอาหาร(DM)}} \times 100$$

เก็บปัสสาวะแพะทุกตัว การสุ่มเก็บตัวอย่างปัสสาวะ ทำเช่นเดียวกันกับการสุ่มเก็บมูล โดยมีถังรองรับปัสสาวะวางอยู่ใต้กรงเมแทบอลิซึม เติมกรดซัลฟูริก เข้มข้น 97 เปอร์เซ็นต์ในถังเก็บปัสสาวะประมาณ 80-100 มิลลิลิตร เพื่อปรับให้ปัสสาวะมีค่าความเป็นกรด - ด่าง ต่ำกว่า 2-3 เพื่อป้องกันการสูญเสีย ของแอมโมเนีย ทำการวัดปริมาตรของปัสสาวะในถังรองรับอยู่ใต้กรงเมแทบอลิซึมจากแพะทุกตัวทุกวัน ในช่วง 7 วันสุดท้ายในแต่ละระยะการทดลอง และสุ่มเก็บปัสสาวะ 5 เปอร์เซ็นต์ ของที่ขับถ่าย ในแพะทดลองแต่ละตัว นำมาเก็บไว้รอให้ครบ 7 วัน ในตู้แช่ที่อุณหภูมิ -10°C เมื่อครบ 7 วัน นำปัสสาวะที่เก็บเอาไว้ในแต่ละวันมา pool สุ่มเก็บไว้ 50 เปอร์เซ็นต์ ของปัสสาวะที่ทำการผสม แล้วนำมาเก็บไว้ที่ -10°C เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน โดยวิธี Kjedahl method (AOAC, 1990)

ชั่งน้ำหนักแพะ ก่อนเข้างานทดลอง และทำการชั่งน้ำหนักเป็นประจำทุก 1 สัปดาห์ในตอนเช้าเวลา 07.00 น. ก่อนให้อาหาร เพื่อคำนวณการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัว และเพื่อนำค่าน้ำหนักที่ได้มาคำนวณหาปริมาณการกินได้ในหน่วยกรัมต่อวัน (g/d), เปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัว (%BW) และกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวเมแทบอลิก ($g/kgBW^{0.75}$)

เก็บตัวอย่างเลือดในวันที่ 21 ของแต่ละช่วงเวลาการทดลอง โดยเจาะที่เส้นเลือดดำที่คอ (jugular vein) เวลา 0, 3 และ 6 ชั่วโมงหลังให้อาหารในตอนเช้า ประมาณ 3 มิลลิลิตร ในหลอดที่มีเฮปพาริน (heparin) เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด และนำไปปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ดูดเอาเฉพาะส่วนที่เป็นซีรั่มเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณของยูเรียในกระแสเลือด (blood urea nitrogen, BUN) ตามวิธีของ Anino and Giese (1976) โดยใช้ spectrophotometer

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ analysis of variance (ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ Double 4x4 Latin square design

2.3 วิธีการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการทดลองที่ได้ทั้งหมดทำการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (Steel and Torie, 1980)